UNTERSUCHUNGEN AN DEN VIER LARVENSTADIEN VON DIAERETIELLA RAPAE MC'INTOSH (HYMENOPTERA, APHIDIIDAE), MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE UND DES SUPERPARASITISMUS

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von
PETER MEISNER
aus
BONN

BONN 1985

UNTERSUCHUNGEN AN DEN VIER LARVENSTADIEN VON DIAERETIELLA RAPAE MC'INTOSH (HYMENOPTERA, APHIDIIDAE), MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE UND DES SUPERPARASITISMUS

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von

PETER MEISNER

aus

BONN

BONN 1985

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn

Referent: Professor Dr. G. Nogge
Korreferent: Professor Dr. W. J. Kloft

Tag der mündlichen Prüfung: 5.7.1985

Institut für Angewandte Zoologie - Direktor:
Professor Dr. W. J. Kloft

Druck: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meinen Söhnen Falko und Knut

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546512_0127

Inhaltsverzeichnis Seite

1. Einleitung 5
   1.1 Biologische Schädlingsbekämpfung 6
   1.2 Integrierte Schädlingsbekämpfung 8
   1.3 Biologie der Versuchstiere 9
   1.4 Wirtswahl 12

2. Zucht 13
   2.1 Wirtspflanzen 14
   2.2 Wirtstiere 16
      2.2.1 Fütterung der Wirtstiere auf künstlicher Diät 18
   2.3 Parasitoid 19
   2.4 Hyperparasitismus 20

3. Anstichversuche 22
   3.1 Material und Methode 22
   3.2 Ergebnisse 24
   3.3 Zusammenfassung und Diskussion 24

4. Morphologie und Histologie der vier Larvenstadien von D. rapae 26
   4.1 Einleitung 26
   4.2 Material und Methode 26
   4.3 Ergebnisse 28
      4.3.1 Die morphologischen Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Larvenstadien von D. rapae 28
      4.3.2 Histologische Untersuchungen des Darmes und der Speicheldrüsen aller Larvenstadien von D. rapae 35
   4.4 Zusammenfassung und Diskussion 39

Seite

5. Nahrungsaufnahme der Larven von D. rapae durch das Körperepithel 40
   5.1 Einleitung 40
   5.2 Material und Methode 40
   5.3 Ergebnisse 41
   5.4 Zusammenfassung und Diskussion 42

6. Funktion des Schwanzanhanges 42
   6.1 Einleitung 42
   6.2 Material und Methode 43
   6.3 Ergebnisse 44
   6.4 Zusammenfassung und Diskussion 44

7. Superparasitismus 47
   7.1 Einleitung 47
   7.2 Material und Methode 49
   7.3 Ergebnisse 49
   7.4 Diskussion 51
      7.4.1 Zur Frage der Fähigkeit von D. rapae zwischen parasitierten und unparasitierten Wirten zu unterscheiden (Diskriminationsfähigkeit) 53
      7.4.2 Eliminierung überzähliger D. rapae-Larven 56
   7.5 Zusammenfassung 59

8. Histochemische Untersuchungen mit besonderer Berücksichtigung von Darm und Speicheldrüsen der Larven von Diaeretiella rapae 59
   8.1 Einleitung 59
   8.2 Material und Methode 61
   8.3 Ergebnisse 72
   8.4 Diskussion 82
   8.5 Zusammenfassung 85
   Literaturverzeichnis 88

1. Einleitung

Die Bevölkerungsexplosion und die damit verbundene, noch stark zunehmende Überbevölkerung der Erde, führt zu vielen sozialen und wirtschaftlichen Problemen. Diese Probleme können in ihren einzelnen, wie auch zusammenhängenden Faktoren noch gar nicht vollständig überschaut werden. Mit dem Versuch diese Situation übersichtlich darzustellen, und eine Zukunftsprognose zu erstellen beschäftigte sich der "Club of Rome", sowie die Studie "Global 2000".

Eines von diesen Problemen betrifft die Ernährung. Dank wissenschaftlichem und besonders medizinischem Fortschritts ist die durchschnittliche Lebenserwartung des Menschen erheblich erhöht worden. Die meisten Krankheiten sind in Bezug auf Virulenz, Erreger und Überträger erforscht und können erfolgreich bekämpft werden. Seuchen bzw. Epidemien werden eingedämmt und an der Ausbreitung gehindert, wenn nicht gar zum Teil ausgerottet (z. B. Pocken, Pest). Die Entstehung neuer oder sog. Zivilisationskrankheiten soll hier unerwähnt bleiben.

Diesem medizinischen Fortschritt in der Lebenserwartung des Einzelnen steht die Frage der Welternährung gegenüber. Was nutzt es zu wissen, daß statistisch gesehen die Lebenserwartung des Menschen höher ist, als vor ein paar Jahren, wenn auf der anderen Seite noch Millionen Menschen frühzeitig an Ernährungsmangel sterben müssen.

Um diesem Nahrungsmangel entgegentreten zu können, muß man durch erhöhte Zucht von Nutzvieh und -pflanzen eine größere Nahrungsgrundlage schaffen. Aber bereits hier treten neue Probleme auf.
Neben dem immer knapper werdenden Raum, der für erhöhte Weide- und Anbauflächen erforderlich ist, treten besonders bei Nutzpflanzen Schadorganismen in Konkurrenz zu dem Menschen. Bei diesen Schadorganismen handelt es sich u. a. um Bakterien,

Viren, Pilze, Nematoden, Insekten, Milben sowie einige höhere Tiere.
Ein großes landwirtschaftliches Problem stellen z. B. die Blattläuse (Aphidina) dar. Mit ihrer großen Artenvielfalt (z. Zt. kennt man allein in Mitteleuropa 850 Arten; CHINERY, 1976) gibt es wohl kaum eine Nutzpflanze, die nicht von diesen Schädlingen aufgesucht wird. Bedingt durch den Anbau von ein- und derselben Nutzpflanze auf großen Anbauflächen (Monokultur), finden aber gerade die Pflanzenparasiten, die diese Pflanzenart bevorzugen, einen idealen Lebensraum, in dem sie sich enorm vermehren können.

Aus diesem Grunde ist man auf eine Bekämpfung der Schadorganismen angewiesen.
Als einfachste Lösung bietet sich eine chemische Bekämpfung an. Ein Nachteil dieser Bekämpfungsmethode besteht darin, daß man damit nicht nur die Schädlinge vernichtet, sondern u. a. auch viele Nützlinge. LINSKII (1977) hat den Einfluß von Insektiziden auf die natürlichen Feinde von Kohlblattläusen in der UdSSR genauer untersucht. Daneben kann es auch einen Eingriff in die biologisch sinn- und wertvolle Nahrungskette bedeuten, was eine Schädigung im großen Bereich der natürlichen Fauna nach sich zieht. Zu dem haben aber gerade Insekten die "Eigenschaft", relativ schnell Resistenzen gegen "Gifte" auszubilden. Dieses führt zur Entwicklung immer neuer Insektizide, die auch eingesetzt werden. Andere zu berücksichtigende Faktoren der chemischen Bekämpfungsmethode sind u. a. Rückstandsprobleme sowie Pflanzenverträglichkeit.
Eine ganz andere Methode der Schädlingsbekämpfung hat die Natur selbst vorgesehen: die sog. biologische Schädlingsbekämpfung.

1.1 Biologische Schädlingsbekämpfung

Unter biologischer Schädlingsbekämpfung versteht man, die Verwendung von Lebewesen, um mit ihnen (allerdings auch hier

durch menschlichen Eingriff) die Population bestimmter schädlicher Tiere oder Pflanzen zu begrenzen, um ihren Schaden auf einen wirtschaftlichen unbedenklichen Stand zu reduzieren (FRANZ u. KRIEG, 1976). Diese Art der Schädlingsbekämpfung kann u. a. durch bestimmte Pilze erfolgen, z. B. Verticillium lecanii zur Bekämpfung von Blattläusen, oder durch andere Insekten, wobei es sich hierbei entweder um ein Räuber-Wirtverhältnis bzw. ein Parasit-Wirtverhältnis handelt. Der Schädling wird entweder vom Räuber gefressen (z. B. Marienkäfer - Blattlaus) oder aber vom Parasiten derart geschädigt, daß seine Lebenserwartung und (oder) Vermehrungsrate gehemmt wird.

Der Parasitismus, d. h. das Leben auf Kosten eines sog. Wirtes setzt voraus, daß der Parasit seinen Wirt nicht lebensgefährlich schädigt. Er würde sonst Nahrung, Schutz und (oder) Wohnraum verlieren und sich somit selbst dem Tode weihen (KLOFT, 1978). Die Beziehung Wirt - Parasit bedarf daher einer besonderen Anpassung, die sich optimal erst über einen langen Zeitraum und mehrere Generationen entwickeln muß bzw. entwickelt hat. Der Parasitismus ist weit verbreitet, etwa 6-7 % aller Tierarten, das entspricht ca. 65000 Arten sind Parasiten (DOGIEL, 1963). Einen besonderen Fall des Parasitismus stellt der Parasitoismus dar.

Beim Parasitoismus schmarotzt der Parasitoid zunächst in seinem Wirt. Hat er eine bestimmte Entwicklungsstufe erreicht (z. B. Ende der Larvalzeit) tötet er seinen Wirt, in dem er ihm lebensnotwendige Nährstoffe entzieht, oder lebenswichtige Organe angreift bzw. auffrißt. Beispiele für den Parasitoismus findet man bei vielen Hymenopterenlarven, zu denen u. a. Schlupfwespen gehören. Bei den Schlupfwespen dient der Wirt zunächst als Medium für die Eiablage, und für die daraus schlüpfende Larve als Nahrungsquelle für die gesamte Larvalentwicklung, an dessen Ende der Tod des Wirtes bewirkt wird.

Die biologische Schädlingsbekämpfung stellt sicherlich einen

wertvollen Aspekt in der Behandlung von Schadorganismen dar und wird in Zukunft noch mehr Beachtung finden. Aber ihre Anwendung auf weitflächigen und wirtschaftlich bedeutenden Kulturen sind erhebliche Grenzen gesetzt. Hierbei handelt es sich sowohl um finanzielle, wirtschaftliche wie auch biologische Faktoren.
Einer dieser biologischen Faktoren ist z. B. die Synchronisation der Auftrittzeiten von Wirtspflanze, Schädling und Nützling. CHUA (1977) beschreibt, daß B. brassicae z. B. sich schon vor der eigentlichen Auftrittzeit des Kohls durch beflügelte Imagines schon über eine große Fläche verbreiten und so während der "Kohlzeit" einen großen Lebensraum einnehmen. Da aber erst dann D. rapae in Erscheinung tritt, ist bereits ein großer Schaden an den Wirtspflanzen entstanden. Mit dem Erscheinen von D. rapae treten aber auch gleichzeitig Hyperparasiten von D. rapae auf (z. B. Alloxysta brassicae), so daß D. rapae nicht in der Lage ist, die Größe der Läuse-Population stark zu beeinträchtigen. Auch STRAKA (1976) zeigt auf, daß eine biologisch wirksame Bekämpfung nur dann gegeben ist, wenn der Schaden unter einer bestimmten Schadensschwelle liegt. Dieses ist aber nicht immer der Fall, weil es zu wenig natürliche Feinde für die große Anzahl der Blattläuse gibt, wobei gerade die mangelhafte zeitliche Synchronisation zw. Läuse- und Blattlausschlupfwespenpopulation eine große Rolle spielt.

Auch die unterschiedlichen Temperaturansprüche von Wirt und Parasit spielen eine wesentliche Rolle. B. brassicae z. B. hat niedrigere Temperaturansprüche als D. rapae (CAMPBELL, 1974; CHUA, 1978).

1.2 Integrierte Schädlingsbekämpfung

Als Alternative zur biologischen und chemischen Schädlingsbekämpfung bietet sich die integrierte Schädlingsbekämpfung an, d. h. der Einsatz von biologischen in sinnvollem Zusammenhang mit chemischen Mitteln. Die integrierte Schädlingsbekämpfung

allgemein ist viel untersucht worden (z. B. FRANZ u. KRIEG, 1976). NAWROCKA (1972), ROGERS (1973), TSACHEV (1972) sowie WEIRES und CHIANG (1973) haben sich besonders mit der integrierten Kontrolle von Kohlschädlingen (hauptsächlich B. brassicae) beschäftigt und einige interessante Ergebnisse herausgefunden. Um aber überhaupt biologische Methoden anwenden zu können, ist es notwendig, die entsprechenden Faktoren genau zu erforschen und kennen zu lernen.

1.3 Biologie der Versuchstiere

Ein Beispiel für eine biologisch (integrierte) Schädlingsbekämpfung ist das Versuchstier D. rapae.

D. rapae gehört zu der
Ordnung : Hymenoptera
Unterordnung: Apocrita
Überfamilie : Ichneumonidea
Familie : Aphidiidae
Unterfamilie: Aphidiinae
Gattung : Diaeretiella
Art : Diaeretiella rapae
nach MACKAUER u. STARY (1967)

Die Schlupfwespen (Ichneumonidea) werden z. Zt. zum größten Teil als Nützlinge angesehen und schon häufig zur biologischen Schädlingsbekämpfung eingesetzt (FRANZ u. KRIEG, 1976; KÄSTNER, 1973).
Diaeretiella rapae ist ein Kosmopolit und in Europa und in den gemäßigten Breiten Nordamerikas sehr verbreitet (MACKAUER u. STARY, 1967). MOCHIBA und TAKADA (1978) weisen auf die mögliche Migration von D. rapae über das östliche chinesische Meer hin. HERAKLY (1970) berichtet von der Parasitierung der Kohlblattlaus B. brassicae durch D. rapae in Ägypten, HABIB (1973) in Pakistan.

Wie der Name Aphidiinae schon besagt, kommen als Wirte nur Arten der Familie Aphididae in Betracht. Obwohl in der Literatur (u. a. MACKAUER u. STARY, 1967) zahlreiche Arten der Aphididae als Wirte für D. rapae aufgeführt werden, dürfte kein Zweifel darüber bestehen, daß B. brassicae der bevorzugte Wirt ist. Zumindest wird in der Literatur (z. B. CHUA, 1978) als einziger primärer Parasit von B. brassicae, D. rapae vorgestellt.

Brevicoryne brassicae gehört zu der

Ordnung : Homoptera
Unterordnung: Aphidina
Familie : Aphididae
Unterfamilie: Myzinae
Gattung : Brevicoryne
Art : Brevicoryne brassicae
nach BÖRNER (1952) und HEINZE (1960)

Die Aphididae saugen an Blättern und zarten Trieben, und durch ihre ungeheure Vermehrungsrate gehören sie zu den gefährlichsten Pflanzenparasiten (CHINERY, 1976). Pro Jahr durchlaufen sie mehrere Generationen. Im Herbst legen die begatteten Weibchen Eier an ihre Wirtspflanzen. Aus den Eiern schlüpfen dann im Frühjahr flügellose Weibchen (Fundatrix), die parthenogenetisch ungeflügelte, bzw. geflügelte Weibchen hervorbringen. Durch die Parthenogenese in mehreren Generationen kommt es zur schnellen Bildung von großen Blattlauskolonien während optimaler Umweltbedingungen. Im Herbst entstehen dann Männchen und Weibchen. Es folgt die Kopulation und schließlich die Eiablage (DIXON, 1977).

Brevicoryne brassicae (Mehlige Kohlblattlaus) ist ein Parasit von Kohlpflanzen aller Art. An ihrem grau-weiß gepuderten Aussehen kann man sie leicht erkennen. Sie ist nicht wirtwechselnd und überwintert als Ei an Kohlstrünken, Winterkohl oder Wildpflanzen der Kreuzblüter. Ihr Schadbild an Kohlpflanzen äußert

sich durch eine eigenartige helle Sprenkelung und buckelige Auftreibung an den Kohlblättern. In trockenen und warmen Sommern entwickelt sich oft ein Massenbefall, der Ausfälle und Qualitätsminderung des Kohls zur Folge hat.
Über die Einflüsse, die zur Entstehung von ungeflügelten und geflügelten Weibchen (welche hauptsächlich zur Verbreitung dienen), sowie zur Bildung von Sexuales führen, haben LEES (1967, 1963) und BONNEMAISON (1951) ausführlich gearbeitet.

Die weibliche Blattlausschlupfwespe (D. rapae) legt mit Hilfe ihres kurzen Ovipositors ein Ei in die Blattlaus ab. Der Anstich des Wirtes erfolgt an beliebiger Körperstelle; selbst in den Kopf kann das Ei abgelegt werden. Bei Temperaturen um 20° C ist die Embryonalentwicklung nach ca. 3 Tagen abgeschlossen; es schlüpft dann die geschwänzte L_1-Larve. Die Larvalentwicklung vollzieht sich über vier Stadien. Während der ersten drei Larvalstadien ernährt sich der Parasitoid vorsichtig unter Schonung lebenswichtiger Organe und Gewebe, hauptsächlich von Hämolymphe und Fettkörperzellen. Erst im letzten Larvenstadium werden auch die anderen Organe angegriffen, d. h. der Wirt wird tödlich geschädigt. Die ausgewachsene L_4-Larve schlitzt dann die Bauchseite des Wirtes auf und verklebt diese an der Unterlage (Blatt oder Stiel der Kohlpflanze). Danach verpuppt sich der Parasitoid im Schutz der leeren Blattlaushülle, nach dem sie sich zuvor einen Kokon gesponnen hat (JOHNSON, 1963). Nach 6-8 Tagen der Puppenruhe schlüpft die adulte Schlupfwespe, indem sie ein mehr oder weniger kreisrundes Loch in die Dorsalseite der Lausmumie schneidet. Die gesamte Entwicklung von Ei bis zur Imago dauert ca. 15 Tage.
Wie bei vielen Hymenopteren kommt auch hier Parthenogenese vor, d. h. weibliche Schlupfwespen können bereits kurz nach dem Schlüpfen unbefruchtete Eier ablegen, aus denen dann allerdings nur Männchen entstehen (arrhenotoke Parthenogenese).

1.4 Wirtswahl

Die Wirtswahl, bzw. dessen Auffindung von Aphidiiden scheint als erstes von dem Habitat der Wirtstiere abzuhängen. TOWNES (1962) fand heraus, daß der Wirt selbst erst eine zweite Rolle dabei spielt. Die Wirtsspezifität wird dabei durch eine Kette von chemischen sowie auch von genetischen und lernbedingten Einflüssen reguliert (VINSON, 1976). FOX et al (1967) zeigte an Aphidius smithi, einem Parasitoid von Acyrthosiphon pisum, daß diese Braconide auch Myzus persicae angreift, aber nur wenn diese Blattlaus sich auf Bohnenpflanzen befindet und nicht auf Tabak. Auch bestimmte olfaktorische Faktoren scheinen eine Rolle bei der Wirtsfindung zu spielen. So beschreibt GROSS et al (1975), daß Microplitis croccipes, ein Parasit von Heliothis (Lepidoptera), bestimmte Pflanzen aufsucht, wenn sie das erste Mal auf eine Wirtspflanze getroffen ist, die von dieser Pflanze gefressen hat.

Die Entwicklung des Parasitoiden in einem bestimmten Wirt scheint dessen Wirtsspezifität zu beeinflußen. THORPE und JONES (1937) fanden heraus, daß Venturia canescens (Gravenhorst) eine positive Reaktion auf Achroia grosella (F.) (eine Wachsmotte), einen für sie annomalen Wirt zeigen, wenn sie sich in diesem (durch Zufall) entwickelt haben. SALT (1963,1968) behauptet, daß weibliche Schlupfwespen nur Wirtsarten belegen können, aus denen sie geschlüpft sind.

Daß die Größe des einzelnen Wirtstieres eine gewisse Rolle für das Anstechen der Blattlausschlupfwespe spielt, ist auch bei D. rapae zu erkennen, die die größeren Nymphenarten von B. brassicae bevorzugt. PUNGERL (1984) zeigt in einem Versuch, daß Aphidius ervi bei 20° C Acyrthosiphon pisum und bei 10 - 15° C Myzus persicae, Sitobion avenae u. S. fragariae bevorzugt. Dieses kann darauf zurückzuführen sein, daß M. persicae, S. avenae und S. fragariae bei niedrigen Temperaturen sich größer entwickeln und nahezu die Größe von

A. pisum erreichen. Allerdings kann auch die Temperatur eine Einwirkung auf die spezifische Wirtswahl der Schlupfwespe haben.

Diese Ergebnisse zeigen wie kompliziert die Möglichkeiten der Einflüsse bei der Wirtsfindung durch Aphidiiden sind. Sowohl äußere Umwelteinflüsse (Wetter, Temperatur und Lichtverhältnisse), wie auch innere (genetische, chemische) und auch das Aussehen und die Größe der Pflanze und des Wirtstieres spielen dabei eine wichtige Rolle.
Aus eigenen Beobachtungen läßt sich schließen, daß D. rapae zuerst (aus der Ferne) auf die Wirtspflanze reagiert, und aus der Nähe auf das Wirtstier, welches dann mit den Fühlern betastet und bei Eignung angestochen wird.

Über die Ausbreitung und die Orientierung von D. rapae hat VATER (1971) eine Untersuchung durchgeführt, wobei er olfaktorische und farbenbezogene Experimente machte. Bei der Ausbreitung selbst muß zwischen einem passiven Transport von Parasitoidenlarven in geflügelten Läusen und aktiver Ausbreitung durch Laufen und Fliegen der adulten Schlupfwespe unterschieden werden.

2. Zucht

Um das Versuchstier Diaeretiella rapae erfolgreich zu züchten, mußte zunächst eine Blattlauszucht des geeigneten Wirtes erstellt werden. Als geeigneten und zugleich von D. rapae bevorzugten Wirt erwies sich Brevicoryne brassicae. Brevicoryne brassicae besitzt einige Vorzüge, die den Aufbau einer Zucht erleichtern.

1. B. brassicae ist monophag, d. h. sie braucht für ihre Entwicklung keinen Wirtswechsel. Als Parasit von Kohlpflanzen (und wilden Kreuzblütern) bereitet die Beschaffung von Wirtspflanzen und des Parasiten keine Schwierigkeiten.

2. B. brassicae ist relativ temperaturunempfindlich. Die Mehlige Kohlblattlaus kann selbst noch bei niedrigen Temperaturen bis weit in den Herbst hinein (in unseren Breiten) im Freiland angetroffen werden. Außerdem kann u. U. eine Zucht überall in geschlossenen Räumen erstellt werden ohne besondere Vorkehrungen zu treffen.

3. B. brassicae besitzt nur schwach ausgebildete mechanische Abwehrreaktionen gegenüber den Angriffen von D. rapae. Auch physiologische Abwehrreaktionen, die lt. WILBERT (1967) in Blattläusen bei einem Mangel an mechanischen Abwehrreaktionen verstärkt werden, sind, wenn überhaupt, nur mangelhaft entwickelt.

4. In der Literatur (CHUA, 1977; 1978; DAIBER, 1971) wird D. rapae als der einzige primäre Parasitoid von B. brassicae angegeben. Dieses scheint zunächst eine Vereinfachung für eine Wirt-Parasit-Zucht darzustellen. Aber da D. rapae-Larven selbst von einer Anzahl von Schlupfwespen attackiert wird, heben diese secundären Parasiten den Vorteil wieder auf (s. Hyperparasitismus).

2.1 Wirtspflanzen

Wie bereits erwähnt ist B. brassicae ein Parasit von Kohlpflanzen aller Art.

Für die Zucht wurden
1. Blätter verschiedenster Kohlsorten
2. geschoßte Kohlpflanzen
3. selbst gezogener Winterkohl (Bonner Advent) benutzt.

Die Kohlblätter wurden von Kohlfeldern aus dem Vorgebirge (Umgebung von Bonn) entnommen und in entsprechende Erlenmeyerkolben oder kleinen Glasflaschen, die mit einfachem Wasser gefüllt waren, eingestellt.

Es wurden sowohl unparasitierte als auch von B. brassicae befallene Kohlblätter gesammelt. Die Art des Kohls scheint zunächst keine wesentliche Rolle zu spielen. Zwar findet man auf bestimmten Kohlfeldern häufiger parasitierte Pflanzen, dieses ist aber nicht von der Art des Kohls abhängig, sondern auf die chemische Behandlung der Felder zurückzuführen. Im Labor dagegen erwies sich Weißkohl am geeignesten. Rot- und Rosenkohlblätter (Rosenkohl trifft man erst in der kälteren Jahreszeit an) neigten dazu unter Laborbedingungen schnell zu verfaulen. Weißkohl und Wirsing hielten sich meist länger, wobei einige Blätter im Wasser sogar Wurzeln zogen. Wirsing bietet allerdings durch seine gekräuselten Blätter den Läusen, wie auch den Kokons gute Versteckmöglichkeiten. Besser als einzeln in Erlenmeyerkolben eingestellte Blätter, erwies sich das Einstellen der Kohlblätter in 20 X 20 X 8 cm großen Plastikschalen, die mit einem Deckel versehen waren. In den Deckel wurden neun ovale Löcher geschnitten, die in etwa dem Querschnitt des Blattstiels der entsprechenden Kohlpflanze entsprechen.
Neben einer einfacheren Handhabung (Transport der Blätter, Gießen und Wasserwechsel) hielten sich die Blätter, aus welchen Gründen auch immer, meist viel länger als in den Erlenmeyerkolben.
Ab Herbst wurde die Zucht zunächst auf Rosenkohlblätter umgestellt. Da sich diese Blätter aber nicht so lange hielten (s. o.) versuchte ich Winterkohl aus Samen selbst zu ziehen. Unter Gewächshausbedingungen schossen die jungen Pflanzen allerdings zu schnell in die Höhe. Die hatten dann zwar einen langen Stiel, aber nur kleine Blätter ausgebildet. Auch eine Kombination zwischen Gewächshaus- und Freilandaufzuchten brachte keinen besseren Erfolg. Die selbstgezogenen Pflanzen erwiesen sich für eine Massenzucht von Läusen als ungeeignet. Geeignet dagegen waren geschoßte Pflanzen, die aus dem Freiland entnommen und in große Blumentöpfe eingepflanzt wurden. Geschoßte Pflanzen konnten bis in den Winter von einigen nicht weiter bearbeiteten Feldern entnommen werden. Alles aus dem

Freiland entnommene nicht parasitierte Pflanzenmaterial wurde gründlich gewaschen, um eventuell vorhandene Rückstände von Pestiziden zu entfernen. Das Pflanzenmaterial in der Zucht wurde täglich mit frischem Wasser versorgt. Welkende oder faulende Blätter bzw. Pflanzen mußten entfernt und durch neue ersetzt werden.

2.2 Wirtstiere

Die aus dem Freiland eingebrachten Blätter mit B. brassicae-Kolonien wurden zuerst auf weitere Pflanzenschädlinge hin untersucht. Nebst anderen Läusearten (hauptsächlich Myzus persicae) fand man bestimmte Schmetterlingsraupen (u. a. Pieris rapae) und andere Insektenlarven. Aber nicht nur Schädlinge mußten entfernt werden, sondern auch viele Nützlinge, wie Coccinelliden (Larven und Imagines) und die Kokons von Syrphiden.
Nach dieser Voruntersuchung wurden die Kolonien von B. brassicae auf "Kokons" hin kontrolliert. Bei diesen Kokons handelt es sich um etwas aufgewölbte Blattlausmumien, die eine metallisch braun-graue Färbung aufweisen und ein sicheres Zeichen dafür sind, daß die Kolonie von Schlupfwespen parasitiert ist. Bei verlassenen Kokons kann man bereits an Hand der Form des Schlupfloches erkennen, ob es sich um D. rapae (kreisrundes Loch mit oder ohne Deckel) oder um eine andere Schlupfwespenart (ausgefranstes Loch stets ohne Deckel; Hyperparasit) handelt. Die Kokons wurden abgesammelt und entweder direkt in ein großes Glas (Ø ca. 20 cm, H ca. 30 cm) gebracht oder zur späteren Verwendung in Petrischalen (Ø ca. 10 cm) im Kühlschrank aufbewahrt.

Das Absammeln der Kokons ist wichtig um
1. eine schlupfwespenfreie Zucht zu erhalten
2. eine hyperparasitierte Zucht zu vermeiden
3. den Zusammenbruch der Läusezucht durch eine zu starke Parasitierungsextensität zu verhindern.

Alle Blätter mußten täglich kontrolliert und gegebenenfalls neue Kokons entfernt werden.

Insgesamt wurden vier Zuchten erstellt:

1. eine schlupfwespenfreie Zucht im Klimaraum bei 20° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 45 %
2. eine kontrolliert parasitierte Zucht in einem Zuchtraum bei 25° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 %
3. eine Zucht im Gewächshaus, hauptsächlich auf geschoßten Pflanzen, bei schwankenden Temperaturen (Glashauseffekt)
4. eine Zucht im Labor selbst.

Die Zuchten wurden räumlich von einander getrennt gehalten, um eine eventuell auftretende Hyperparasitierung der einen Zucht nicht auf die anderen zu übertragen. Konstante Lichtverhältnisse (16 Std.-Tag) waren notwendig, um die Bildung von Sexupares zu verhindern, was einen Zusammenbruch der Läusepopulation zur Folge hat. Ebenso mußte ein zu starkes Anwachsen der Läusekolonien vermieden werden, weil sonst geflügelte Formen entstehen, was wiederherum eine Dezimierung der Zucht zur Folge hat.
Im Freiland kommt es immer wieder zu mehr oder weniger starken Schwankungen innerhalb der Läusepopulation. Eine Abnahme der Population in der Jahresmitte führt HAFEZ (1961) auf die Zunahme von Prädatoren der Läuse zurück. Im Herbst dagegen kommt es bedingt durch Temperatur und Tageslänge zur Bildung von Sexualformen, was wiederherum zu einer Abnahme der Bevölkerung der Läuse führt (s. o.). Auch Regen und andere widrige Witterungsverhältnisse wirken sich auf die Population aus, wobei besonders frisch geschlüpfte Larven betroffen sind (MARKKULA, 1953).
Aber auch in den Zuchten kam es zu jahreszeitlich bedingten Schwankungen, obwohl durch die Zuchtbedingungen die oben aufgeführten Gründe entfallen. HUGHES (1963) führt dieses auf die Abnahme der Nahrungsqualität zurück. Eine Änderung der Nahrungsqualität ist mit dem Threoningehalt der Pflanze ver-

bunden. So ist der Gehalt dieser Aminosäure in jungen und alten Pflanzen am niedrigsten (v. EMDEN, 1971). Da die Zuchten mit Pflanzenmaterial aus dem Freiland aufgebaut und immer wieder mit diesem ergänzt wurden, scheint dieses eine mögliche Ursache für die auftretenden Läusedepressionen in den Zuchten zu sein.

2.2.1 Fütterung der Wirtstiere auf künstlicher Diät

Um die Untersuchungen unter standardisierten Versuchsbedingungen durchführen zu können, wurde versucht, B. brassicae auf einem chemisch genau definierten Kunstfutter (Volldiät) zu halten.
Die Membranfütterung an Blattläusen ist schon oft mit Erfolg zur Klärung der unterschiedlichsten Fragestellungen durchgeführt worden (s. ARNOLD, 1978; KLOFT u. ESSER, 1978; KUNKEL u. HERTEL, 1975; SCHNORBACH, 1983).
Diese Diät wird unter sterilen Bedingungen in sog. "Sachets" aus Parafilm eingebracht. Die Herstellung dieser "Sachets" hat KUNKEL (1977) genau beschrieben. Die Standard-Diäten setzen sich aus verschiedenen Aminosäuren, Vitaminen, organischen und anorganischen Komponenten zusammen, wobei sich die verschiedenen Diäten hauptsächlich durch die quantitative aber auch teilweise durch die qualitative Zugabe der einzelnen Komponenten unterscheiden (KUNKEL, 1977). Zwei Standard-Diäten wurden getestet. Eine nach der Zusammensetzung von HERGER und LAMPEL (1975), eine zweite nach KUNKEL (1977), die auf Diäten nach MITTLER und DADD (1966) sowie MITTLER, TSITSIPIS und KLEINJAN (1970) zurückgreift.

Aufgrund der unterschiedlichen Ernährungsansprüche der verschiedenen Blattlausarten variiert der Erfolg einer Diät-Fütterung. Er reicht von Verweigerung bis zur sofortigen Annahme des angebotenen Mediums, sowie Einflüsse auf Entwicklung, Wachstum und Reproduktion (s. KLOFT u. SAFE, 1980). Während einige Blattlausarten erfolgreich über mehrere Gene-

rationen auf künstlicher Diät gehalten werden konnten, z. B. Myzus persicae 45 (MITTLER u. KOSKI, 1976), Aphis fabae 25 Generationen (DADD u. KRIEGER, 1967) gelang dieses bei B. brassicae nicht. Obwohl WHITE (1972) und HERGER u. LAMPEL (1975) zumindest 1 - 1,8 Generationen auf Diäten halten konnten, wanderten in meinen Versuchen B. brassicae entweder ab, bzw. nahmen das dargebotene Futter nicht an. Für meine Zwecke erwies sich die Fütterung auf künstlichen Nährmedien der gewählten Zusammensetzung somit als unbrauchbar.

Andere Läusearten, die für die "Anstichversuche" benutzt wurden, stellte mir Herr Weinrich von Zuchten zur Verfügung, die bereits erfolgreich an diesem Institut von der "Arbeitsgruppe Dr. Kunkel" gezüchtet wurden und werden.

Es handelt sich dabei um die Arten:
Aphis craccivora KOCH
Acyrthosiphon pisum (HARRIS)
Aulacorthum circumflexum (BUCKTON)
Myzus persicae (SULZER)

2.3 Parasitoid

Auf der Basis einer guten Zucht von B. brassicae ist die Haltung von Diaeretiella rapae relativ problemlos. Allerdings muß dabei beachtet werden, daß D. rapae für eine optimale Entwicklung etwas höhere Temperaturen als ihr Wirt benötigt (CAMPBELL,1974; CHUA, 1978). Nach AKINLOSOTU (1977) sind 20° C für die Entwicklung des Wirt-Parasitoid-Komplexes optimal. Aus diesem Grunde wurde die Laus-Parasitoid-Zucht hauptsächlich im Zuchtraum bei dieser Temperatur durchgeführt.

Die aus dem Freiland eingebrachten Läusekolonien waren fast immer von D. rapae parasitiert, und bildeten somit den Grundstock für eine Schlupfwespenzucht. Wie bereits erwähnt, wurden die abgesammelten Kokons entweder in große Einmachgläser, wel-

che mit einer feinen Gaze (z. B. Damenstrumpf) verschlossen waren oder zur späteren Verwendung in Petrischalen gesammelt und im Kühlschrank aufbewahrt. Während die Puppenruhe unter normalen Bedingungen ca. 6-8 Tage dauert, kann sie durch Kälte u. U. bis zu 3 Monaten verlängert werden.

Die im Weckglas geschlüpften Schlupfwespen wurden erst bestimmt und eventuell vorhandene Hyperparasiten (s. Kapitel Hyperparasitismus) entfernt. Für die Eiablage ist die vorherige Aufnahme von Wasser unbedingt erforderlich, weshalb ein paar Tropfen Wasser mittels einer Pipette an der Innenwand des Weckglases aufgetragen wurden. Als Nahrung dient ihnen der von Blattläusen produzierte Honigtau, den man leicht von den parasitierten Kohlblättern absammeln kann. Für eine D. rapae Zucht wurden weibliche Schlupfwespen einige Tage nach dem Schlupf mit Hilfe eines selbstgebauten Exhaustors aus den Weckgläsern entnommen und einer parasitenfreien Läusepopulation zugesetzt.

2.4 Hyperparasitismus

Ein großes Problem in der Zucht B. brassicae - D. rapae stellt das Auftreten von Hyperparasiten dar, welche die Larven von D. rapae parasitieren. Die bekanntesten Hyperparasiten gehören zur

Überfamilie : Cynipoidea (Gallwespen)
Familie : Cynipidae
Unterfamilie: Charipinae ; mit den Gattungen
Alloxysta
Charips
Allotria

Ein anderer Teil gehört zur

Überfamilie : Chalcidoidea (Erz- oder Zehrwespen)

Familie : Chalcididae
Unterfamilie: Pteromalinae; mit den Gattungen
Asaphes
Pachyneuron

Schließlich sind Hyperparasiten bekannt aus der

Unterfamilie: Eneyrtinae; mit der Gattung
Aphidenecyrtus
(CHINERY, 1976; GRANDI, 1951)

Entsprechend dem weltweiten Auftreten von B. brassicae mit ihrem Primärparasitoid D. rapae, sind auch diese Hyperparasiten Kosmopoliten. Ihr Vorkommen wird aus England (CHUA, 1978), Bulgarien (TSACHEV, 1972), Südafrika (DAIBER, 1971), Ägypten (HERAKLY, 1970), USA, Kalifornien (OATMAN, 1973), Japan (TAKADA, 1976) beschrieben, wobei Alloxysta, Asaphes, Pachyneuron und Charips die häufigsten genannten Gattungen sind. Die von mir im Freiland und auch in den Zuchten angetroffenen Hyperparasiten waren in der Mehrzahl Arten der Gattung Charips.

Obwohl durch intensives Absammeln aller Kokons auf den Kohlblättern innerhalb einer Zucht, Hyperparasitismus zunächst vermieden werden kann, zeigte es sich, daß diese Maßnahme nur einen zeitlichen Aufschub des Problems darstellte. Auf die Dauer stellte es sich heraus, daß es fast unmöglich ist, selbst in gut verschlossenen Klimaräumen, eine Zucht hyperparasiten- bzw. wenn nötig, ganz parasitenfrei zu halten. Durch aus dem Freiland eingetragenes, wenn auch gut abgesuchtes Pflanzenmaterial , gelangten immer wieder Hyperparasiten in die Zuchten. Ein weiterer Zuflug vollzog sich durch das Öffnen der Türen zu den Zuchträumen (besonders zum Gewächshaus). Aufgrund der hohen Eizahl, die ein hyperparasitierendes Weibchen ablegen kann, kann sich unter diesen Bedingungen sehr schnell eine Durchseuchung der Blattlauszuchten mit den

Hyperparasiten einstellen. Aus diesem Grunde mußten manche Zuchten häufig erneuert und für einige Zeit an anderen Orten untergebracht werden.

Für die Versuche wurden verwendet

1. parasitierte B. brassicae
2. aus Blattläusen isolierte D. rapae-Larven aller Stadien
3. für die Anstichversuche verschiedene Blattlausarten sowie Weibchen von D. rapae.

3. Anstichversuche

3.1 Material und Methode

In der Literatur (MACKAUER u. STARY, 1967) werden viele Blattlausarten des Myzus-Brachycaudus-Komplex als Wirte für D. rapae aufgeführt. Folgende Blattlausarten wurden von mir auf ihre Eignung als Ersatzwirt für D. rapae getestet.

Aphis craccivora KOCH
Acrythosiphon pisum (HARRIS)
Aulacorthum (Neomyzus) circumflexum (BUCKTON)
Myzus persicae (SULZER)

A. craccivora, A. pisum und A. circumflexum wurden auf Vicia fabae, M. persicae auf Kohl gehalten.

Die Anstichversuche erfolgten in speziell vorbereiteten Petrischalen (Abb. 1), in großen Weckgläsern und sog. "offenen" Zuchten, welche in einem separaten Raum untergebracht waren.

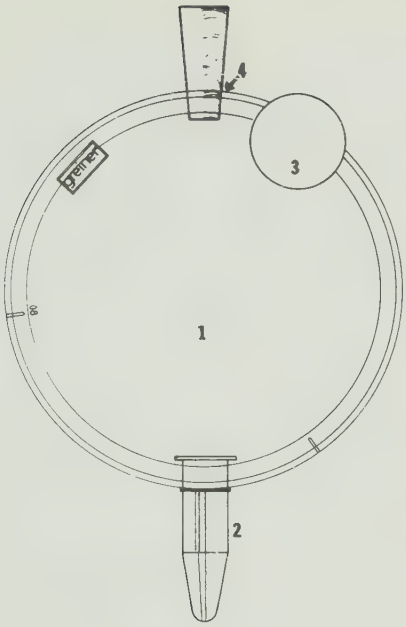

Abb. 1
Gefäß für Anstichversuche
1. Petrischale, 2. "Eppendorfcap" mit Wasser zum Einstellen eines kleinen Kohlblattes, 3. Öffnung zum Einsetzen von Schlupfwespen, 4. "Versorgungsöffnung" zum Versorgen der Pflanzen und Schlupfwespen mit Wasser (mit Hilfe einer Pipette)

Die Versuchsgefäße, bzw. die Pflanzen (Blätter) der "offenen" Zucht, wurden jeweils mit einer bestimmten Lausart besetzt, zu denen D. rapae-Weibchen zugesetzt wurden, die einige Tage zuvor in Weckgläsern geschlüpft waren. Die Schlupfwespen wurden 48 Stunden bis 3 Tage zusammen mit den entsprechenden Läusen gehalten. Anschließend wurden die Läuse aufpräpariert und auf Schlupfwespenlarven hin untersucht.

3.2 Ergebnisse

In den Petrischalen waren die Schlupfwespen selbst gegenüber ihrem Normalwirt B. brassicae äußerst anstichunwillig. Nur wenige erfolgreiche, d. h. mit einer Eiablage verbundene Anstiche erfolgten. Die Anstichrate bei Haltung der Versuchstiere in Weckgläsern war kaum größer. Anders verhielt es sich in den "offenen" Zuchten. Hier zeigten die Weibchen von D. rapae eine bemerkenswerte Aktivität und Anstichbereitschaft, zumindest bei B. brassicae. Gegenüber A. craccivora, A. circumflexum und A. pisum verhielten sich die Schlupfwespen auch unter diesen Versuchsbedingungen sehr passiv. Zwar erfolgte häufig ein Fühlerkontakt mit den Läusen, aber es kam zu keinem Anstich. Auch bei der nachfolgenden Präparation dieser Blattläuse konnten weder Eier noch Larven gefunden werden.
Anders verhält es sich bei Myzus persicae. Diese Art wurde als Wirt akzeptiert und mit einem Ei belegt. Die Larvalentwicklung des Parasitoiden verlief normal. Wurden alle Läusearten innerhalb einer "offenen" Zucht den Schlupfwespen präsentiert, wurde B. brassicae gegenüber M. persicae deutlich bevorzugt. Die anderen Arten wurden überhaupt nicht beachtet. Wurden D. rapae-Weibchen zuerst nur mit B. brassicae zusammengebracht, so verhielten sie sich später gegenüber M. persicae äußerst passiv. Nur selten kam es zum Anstich.

3.3. Zusammenfassung und Diskussion

B. brassicae ist zweifellos der Hauptwirt von D. rapae, während M. persicae als Nebenwirt betrachtet werden muß. Bei Anwesenheit von B. brassicae kommt es nämlich kaum zur Parasitierung von M. persicae.

Es ist also ganz entscheidend für die Akzeptanz der Laus Myzus persicae als D. rapae-Wirt, daß D. rapae unmittelbar nach dem Schlupf aus dem Kokon mit dieser Blattlausart zu-

sammentrifft. Ohne eine vorherige Prägung auf B. brassicae kann dann ohne Schwierigkeiten die Zucht von D. rapae mit M. persicae durchgeführt werden. Die gleiche Beobachtung konnte auch im Freiland gemacht werden.
Während B. brassicae streng wirtsspezifisch (Kohlpflanzen und andere Kreuzblüter) ist und keinen Wirtswechsel zeigt, ist M. persicae weit wirtsspezifisch und benötigt zu seiner Entwicklung einen Wirtswechsel. Man findet daher M. persicae auch häufig auf Kohlpflanzen. Während man aber in den Kolonien von B. brassicae fast immer Kokons von D. rapae antraf, waren die Kolonien von M. persicae sehr viel seltener vom gleichen Parasitoiden befallen.
ATAEVA (1961, 1963) beschreibt z. B. Aphis craccivora als Wirt von D. rapae. Ein Befund, den ich durch eigene Versuche nicht bestätigen kann. In anderen Blattlausarten, z. B. Macrosiphoniella sanborni und Aulacorthum circumflexum kann sich D. rapae nicht entwickeln, weil entweder das Milieu (Wirtshaemolymphe) für eine Entwicklung des Parasitoiden nicht geeignet ist (BROUSSAL, 1961), oder weil der Parasitoid durch Wirtshaemocyten abgekapselt und dadurch getötet wird (KLINGAUF, 1966; WILBERT, 1967; MARX-SOHO MOUMÉ, 1980).

Wie bereits im Kapitel "Wirtswahl" dargelegt, beeinflussen zahlreiche Faktoren die Wirtsfindung der Schlupfwespen. Bei der Fernorientierung spielen zweifellos die Wirtspflanzen eine bedeutende Rolle. Da außer M. persicae und B. brassicae alle anderen gebotenen Blattlausarten auf Vicia fabae gehalten wurden, ist dies vielleicht der Grund für die Nichtakzeptanz anderer Arten. Die für die Wirtsfindung notwendige Signalwirkung "Wirtspflanze" fehlt.

4. Morphologie und Histologie der vier Larvenstadien von D. rapae

4.1 Einleitung

Über die Morphologie und Histologie der verschiedenen Larvenstadien von Diaeretiella rapae liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor (u. a. MADEL und KILGER, 1981; MENNIKEN, 1979; COUCHMAN und KING, 1977; BROUSSAL, 1966). Zu dieser Thematik sollen nur noch notwendige Ergänzungen aufgeführt werden. Sie beschränken sich im wesentlichen auf rasterelektromikroskopische Untersuchungen.

Genaue Kenntnisse über die Larvenmorphologie sind notwendig, um die verschiedenen (4) Larvenstadien unterscheiden zu können. Desweiteren ist der histochemische Aufbau der Organe die an dem Prozeß der Nahrungsaufnahme beteiligt sind, zu untersuchen.

4.2 Material und Methode

Für die morphologischen Untersuchungen wurden Larven aller vier Larvenstadien unter der Lupe (Arnold, 20-fache Vergrößerung) aus den entsprechenden Blattläusen herauspräpariert und unter dem Mikroskop (Leitz) bei schwacher Vergrößerung beobachtet. Für die Untersuchungen mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM, Leitz AMR 1000) wurden die isolierten Larven in 2 % Glutaraldehyd fixiert, anschließend zweimal in Phosphatpuffer (Soerensen) gewaschen und in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Aus dem 100 % Äthanol wurden sie entnommen und im Exsikkator getrocknet. Anschließend bei 2,4 - 2,6 kV 3 Min. (Polaron 2000) mit Gold besputtert. Diese Methode verursachte jedoch besonders bei den kleineren Larvenstadien starke Schrumpfungen, so daß zahlreiche Objekte nicht ausgewertet werden konnten. Es wurde deshalb die Critical-Point-Methode angewandt. Die Objekte wurden aus 100 % Alkohol in n-Amylacetat übertragen und über CO_2 getrocknet. Bei Anwendung

dieser Methode ergab sich zunächst die Schwierigkeit, daß die sehr kleinen L_1- und L_2-Larven in den zu verwendenden Drahtkörbchen (Ø ca. 1 cm, Tiefe ca. 1,5 cm) nur schwer wiederzufinden waren. Die Körbchen wurden deshalb verkleinert, bzw. die Larven in winzige Behälter gebracht, die in die Körbchen paßten und zugleich für die benutzten Chemikalien durchlässig waren, aber nicht von diesen angegriffen wurden. Die sog. Eppendorf-Reaktions-Gefäße erwiesen sich hierfür als besonders geeignet (Abb. 2). Diesen "Eppendorf-caps" wurde der oben überstehende Ring einschließlich Deckel abgeschnitten (1). Der innen ausgebuchtete Raum des Deckels (4) hatte die ideale Größe, um die entsprechende Larve aufzunehmen. Mit Hilfe einer feinmaschigen Gaze (3) wurde dann der Hohlraum abgedeckt und mit dem "Ring" (2) gut verschlossen. In solchen "präparierten" Gefäßen ließen sich die Objekte sehr gut beobachten.

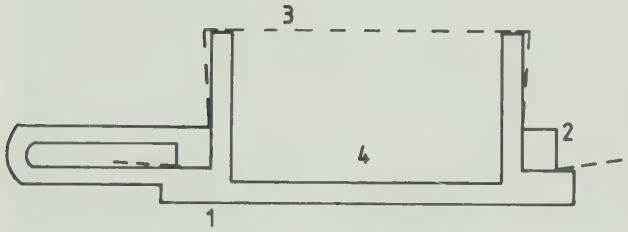

Abb. 2
C.-P.-Hilfsgefäß, für besonders kleine Objekte

Allerdings erbrachte auch die Critical-Point-Methode nicht die erhofften optimalen Ergebnisse.

Für die histologischen Untersuchungen wurden sowohl parasitierte Blattläuse, als auch isolierte Larven von D. rapae verwendet.
Die Objekte wurden in Formol (1:4) bei Zimmertemperatur fixiert. Die Fixierungsdauer betrug 12-16 Stunden. Nach mehrmaligem Waschen in Wasser, erfolgte die Entwässerung der Präparate über die Alkoholreihe. Anschließend wurden die Objekte für insgesamt 24 Stunden in drei Methylbenzoatstufen überführt. Nach zweimaliger 15-minütiger Benzol-Behandlung wurden sie 30 Minuten in Benzol-Paraffin (1:1) bei ca. 50° C eingestellt, dann für 24 Stunden bei 60° C in flüssiges Tissumat I gebracht und danach für mindestens weitere 24 Stunden in Tissumat II.
Es wurden 5-7 µm dicke Schnitte mit dem Schlittenmikrotom (Fa. Jung) angefertigt, die nach der Entparaffinierung mit Azan (ROMEIS, 1968) gefärbt wurden.

4.3 Ergebnisse

4.3.1 Die morphologischen Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Larvenstadien von D. rapae

Die L_1 hat eine durchschnittliche Größe von ca. 0,75 mm und einen Durchmesser von ca. 0,15 mm; die L_2 ist ca. 1,5 mm und ca. 0,25 mm, die L_3 ca. 1,8 mm und 0,45 mm, die L_4 ca. 2,3 mm lang und 0,7 mm breit (MENNIKEN, 1979). Die angegebenen Größenverhältnisse sind aber nicht als absolute Werte zu verstehen, denn unter bestimmten Bedingungen (z. B. Wirtsgröße, Superparasitismus; vergleiche dazu die entsprechenden Kapitel) können die Größen (besonders bei der L_4) erheblich schwanken.

Weitere Unterscheidungsmerkmale sind:
der Schwanzanhang der L_1-Larve, alle weiteren Larvenstadien sind schwanzlos,
die Ausbildung eines Tracheensystems im L_3-Stadium, welches im L_4-Stadium durch Stigmenöffnungen vervollständigt wird,
die Bildung sog. Uratzellen (d. s. modifizierte Fettkörperzellen) im L_4-Stadium
und schließlich die unterschiedliche Form der Mandibeln.

Bei der L_1 und der L_4 sind die Mandibeln am auffälligsten und kräftigsten entwickelt und bereits im LM sehr gut zu erkennen. Die Mandibeln der L_1 sind sichelförmig, schlank und wenig pigmentiert (Abb. 3), die der L_4 dagegen breiter, weniger gebogen, deutlich kürzer (gedrungener) und bei ausgewachsenen L_4 stark pigmentiert (Abb. 4).

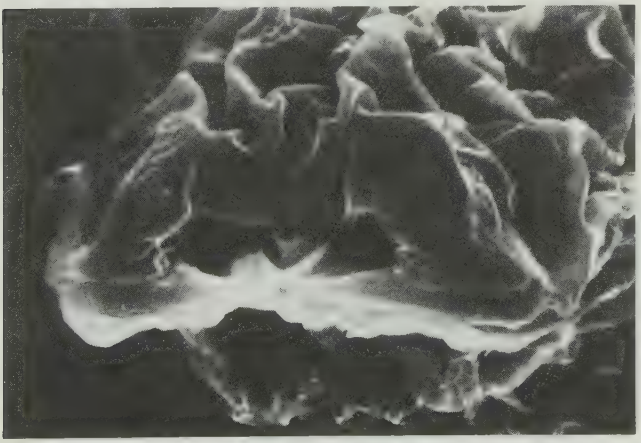

Abb. 3
L_1-Mandibeln (1000-fache Vergrößerung)

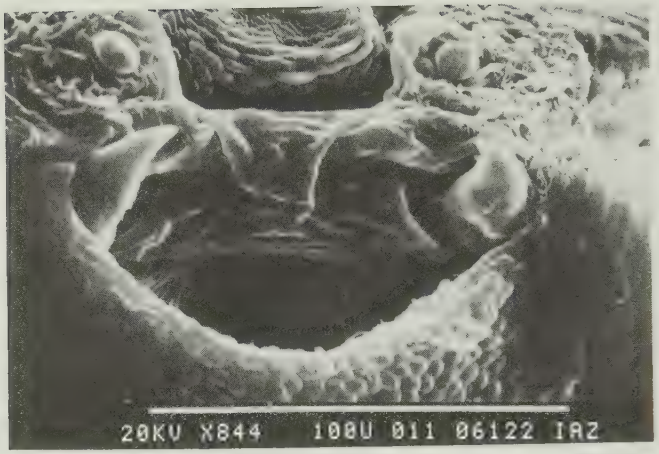

Abb. 4
L_4-Mandibeln (844-fache Vergrößerung)

Die sehr kleinen Mandibeln der L_3 sind von dreieckiger Form und unpigmentiert (Abb. 5).

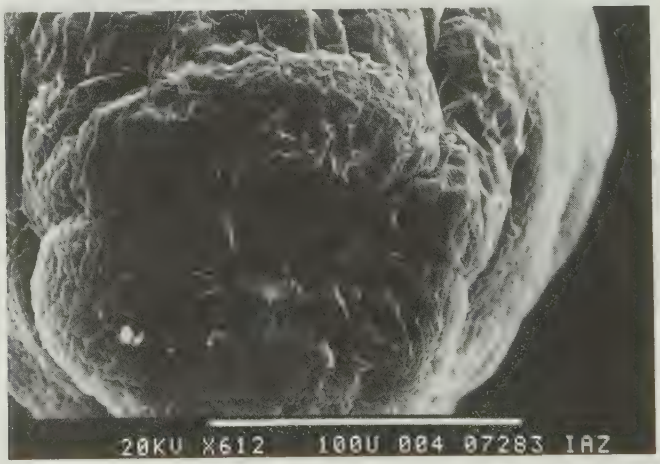

Abb. 5
L_3-Mandibeln (612-fache Vergrößerung)

Im 2. Larvenstadium sind die Mandibeln nur sehr schwer oder überhaupt nicht zu erkennen, da sie vollkommen unpigmentiert und sehr klein sind. Die Abbildung 6 zeigt einen histologischen Schnitt durch die Kopfregion einer L_2-Larve. Man erkennt bei ▼ die winzigen Mandibeln. Die unterschiedliche Form und Festigkeit (= Grad der Sklerotisierung) der Mandibeln in den verschiedenen Larvenstadien, läßt auf eine unterschiedliche Funktion schließen. Die langen schlanken Mandibeln der L_1 gehen mit der Häutung zur L_2 verloren. Sie werden durch gedrungene, dreieckige, weichhäutige Mandibeln ersetzt, die im 3. Larvenstadium etwas fester werden und schließlich durch zunehmende Sklerotisierung ebenso fest wie die Mandibeln des 1. Larvenstadiums sind.

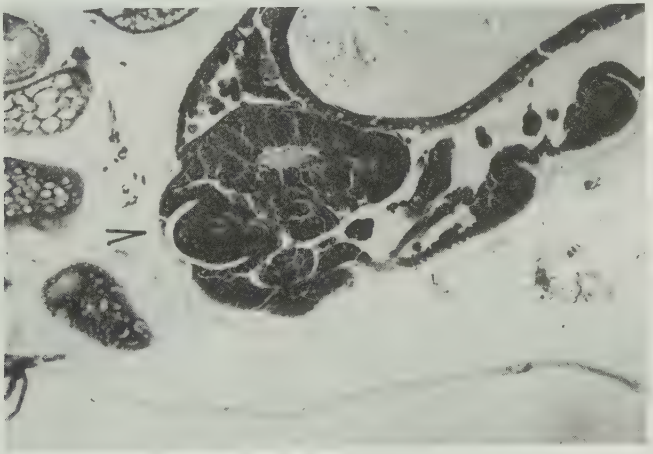

Abb. 6
L_2, Schnitt durch Kopfregion (Azan; 80-fache Vergrößerung)

Die ersten 3 Larvenstadien sind im Besitz von speziell ausgebildeten Dornen▼auf der Dorsalseite, jeweils am Ende eines jeden Abdominalsegmentes gelegen (Abb. 7).

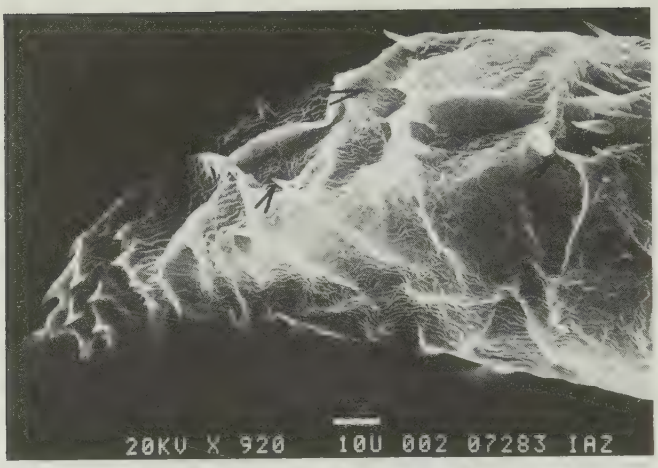

Abb. 7
L_1-Abdomen, Schwanzanhang nicht vollständig erhalten
(920-fache Vergrößerung)

Im L_1-Stadium ist auch der Schwanzanhang mit Dornen bedeckt (Abb. 8). Alle Dornen sind als Derivate der Epidermiszellen zu betrachten. Die Dornen des Schwanzanhanges der L_1 sind kräftiger entwickelt als jene auf dem Abdomen, sie sind in 4-5 Reihen hintereinander angeordnet.

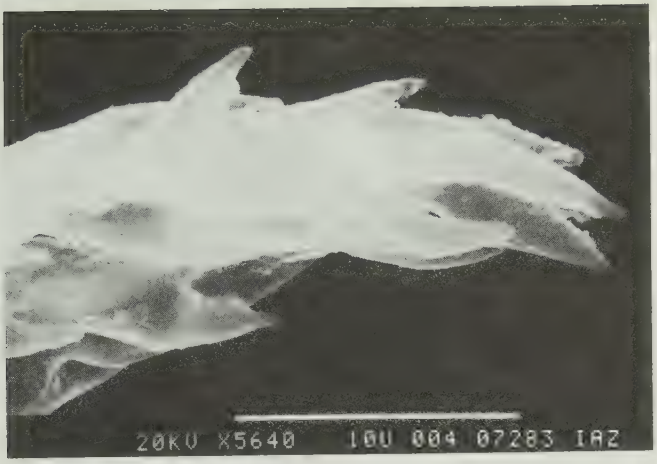

Abb. 8
L_1-Schwanzanhang (5640-fache Vergrößerung)

Die Epidermis aller 4 Larvenstadien weist zusätzlich unregelmäßig geformte "Schuppen" auf (Abb. 9), die im L_4-Stadium zu deutlich ausgeprägten Dornen entwickelt sind (Abb. 10), zwischen denen verteilt einige Sinneszellen liegen.

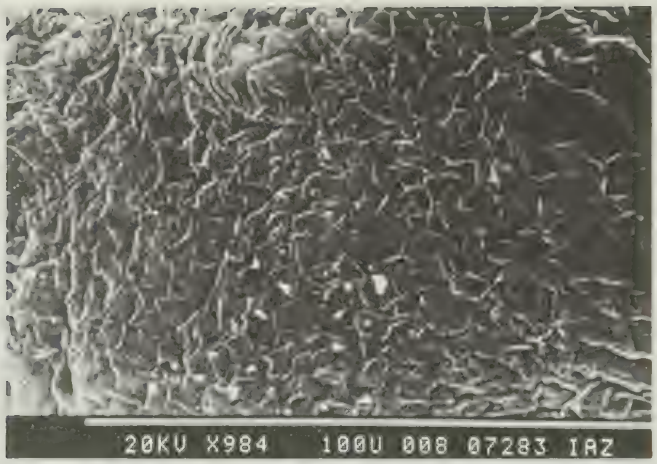

Abb. 9
L_3-Epidermis (984-fache Vergrößerung)

Abb. 10
L_4-Epidermis, mit vereinzelt liegenden Sinneszellen ▼
(476-fache Vergrößerung)

4.3.2 Histologische Untersuchungen des Darmes und der Speicheldrüsen aller Larvenstadien von D. rapae

Die mikroskopischen Untersuchungen ergaben folgende Befunde: der Darmtrakt aller vier Larvenstadien beginnt mit dem an die Mundhöhle anschließenden muskulösen Pharynx, dessen Epithel überwiegend aus flachen Zellen besteht und mit einer kräftigen Muskularis (Ring- und Längsmuskulatur) unterlegt ist. Ihm folgt der englumige Ösophagus. Der Ösophagus geht unter Einschaltung eines schwach ausgebildeten Ventiltrichters (V. cardiaca) in den Mitteldarm über. Der Mitteldarm unterliegt während der Larvalentwicklung erheblichen Veränderungen. Zunächst fällt seine enorme Vergrößerung während des Larvenwachstums auf. Im ersten Larvenstadium nimmt er nur einen kleinen Teil der Leibeshöhle ein, im letzten (vierten) Larvenstadium füllt er nahezu die gesamte Körperhöhle aus (Abb. 11 u. 12).

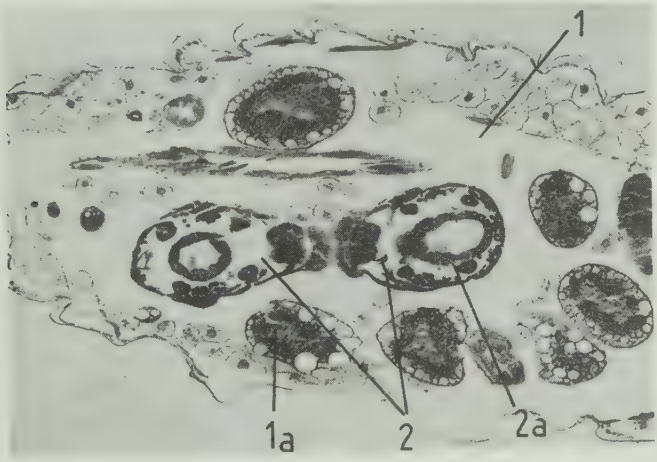

Abb. 11
Längsschnitt durch eine parasitierte Laus (Azan; 40-fache Vergrößerung)
1 = Laus, 1a = Teratocyten, 2 = L_1-Larve des Parasitoiden, 2a= Darm

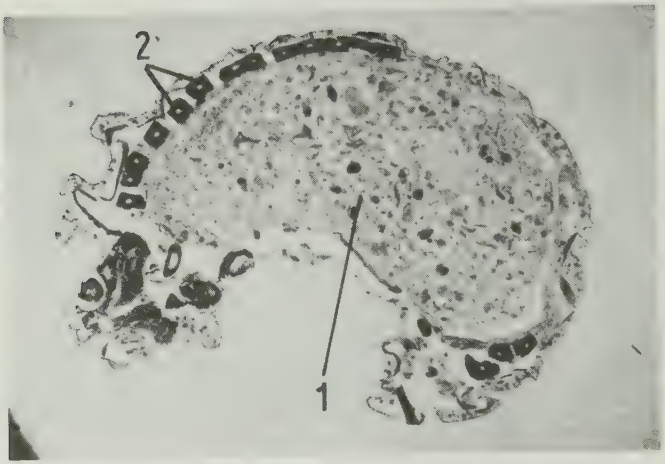

Abb. 12
Längsschnitt durch eine L_4-Larve (Mallory; 40-fache Vergrößerung)
1 = Darm, 2 = Speicheldrüsen

Der Mitteldarm endet in allen vier Larvenstadien blind; ein Befund, der bekanntlich für alle apocriten Larvenstadien gilt. Erst gegen Ende des 4. Larvenstadiums kommt es zu einer Verbindung mit dem anschließenden Enddarm.

Das Mitteldarmepithel ist einschichtig. Im ersten Larvenstadium sind die Epithelzellen prismatisch und sechseckig (Pflasterepithel), die Zellgrenzen sind deutlich sichtbar, die Zellkerne groß und rund. In den folgenden Larvenstadien (L_2 bis L_4) werden die Zellgrenzen immer undeutlicher und sind im vierten Stadium gar nicht mehr zu erkennen. Das Pflasterepithel geht über in ein Plattenepithel. Gleichzeitig kommt es zu einer zunehmenden Einlagerung von Fettvakuolen in die Darmzellen. Im 4. Larvenstadium sind dann alle Mitteldarmzel-

len mit Fettvakuolen angefüllt. Das Mitteldarmepithel läßt keine Trennung zwischen sezernierenden und resorbierenden Zellen erkennen, d. h. es ist nur ein Zelltyp vorhanden. Interstitielle (Ersatz-) Zellen wurden nicht gefunden. Das Epithel wird von einer Längs- und Ringmuskulatur überzogen (Abb. 13).

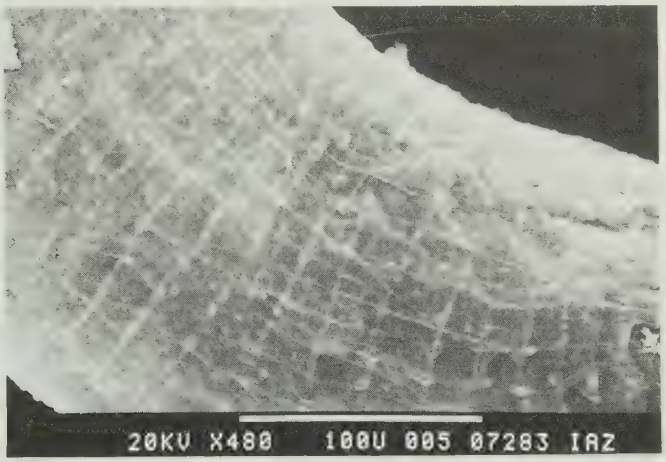

Abb. 13
Isolierter Darm einer L_4-Larve (480-fache Vergrößerung)

Ausgekleidet wird der Mitteldarm aller vier Larvenstadien durch peritrophische Schichten.

Der Darminhalt des 1. Larvenstadiums besteht überwiegend aus einer flüssigen Komponente (= Wirtshaemolymphe), die von zellulären Bestandteilen durchsetzt ist. Die folgenden Larvenstadien enthalten im Darm überwiegend zelluläres Material unterschiedlicher Größe und Struktur. Hinter dem blind endenden Mitteldarm (s. o.) münden zwei Malpighische Gefäße in einen engen Pylorus ein. Dieser geht in das kurze

Ileum über. Dem sich anschließenden Colon folgt das Rectum, welches über den Anus nach außen mündet.

Auch die Speicheldrüsen (=Labialdrüsen) unterliegen während der Larvalentwicklung Veränderungen. Sie sind bereits im 1. Larvenstadium ausgebildet. Ihre schlitzförmige Öffnung auf dem sog. Labialsklerit der Kopfkapsel geht über in einen kurzen unpaaren Speicheldrüsenausführgang, der sich auf der Höhe des Ösophagus in einen rechten und linken Drüsenschlauch aufgabelt, die sich dann nach sehr kurzem Verlauf teilen, so daß beiderseits des Mitteldarmes ein Paar noch nicht gewundener Schläuche entlang ziehen (Abb. 14). Diese paarigen Schläuche stellen das eigentliche Drüsengewebe dar. Es besteht aus uniformen Zellen vom Pflasterzellen-Typ, die alle zur Sekretion befähigt sind. Die Zellen sezernieren eine Substanz in das Drüsenlumen. Das Sekret wird mit Azan tiefblau gefärbt.

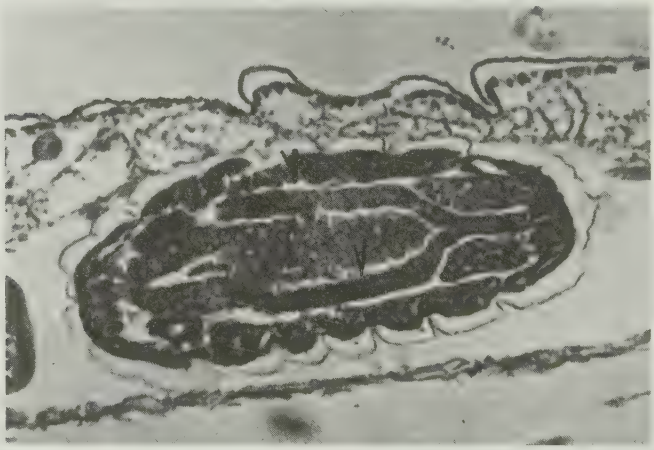

Abb. 14
Längsschnitt durch eine L_1-Larve (innerhalb des Wirtstieres) (Azan; 80-fache Vergrößerung)
▼ = Speicheldrüsen

Während der Larvalentwicklung werden die Drüsenschläuche immer länger und voluminöser. Damit sie den notwendigen Platz in der Leibeshöhle finden, legen sie sich in Windungen. Diese werden mit zunehmendem Alter der Larve (und damit auch zunehmender Länge der Drüsen) immer enger angelegt (s. Abb. 12).

4.4 Zusammenfassung und Diskussion

Während ihrer Entwicklung innerhalb der Blattlaus (B. brassicae) ist die Larve von D. rapae morphologischen und histologischen Änderungen unterworfen. Einige morphologische Merkmale sind sogar nur für ein bestimmtes Larvenstadium typisch. So besitzt nur die L_1 einen langen Schwanzanhang (zur dessen Funktion s. Kap. "Funktion des Schwanzanhanges"). Alle folgenden Stadien entbehren eines solchen Anhanges. Die Mandibeln sind zwar in allen Larvenstadien vorhanden, aber im L_1-Stadium sind diese Mundwerkzeuge von ganz anderer Form als in den anderen Stadien. Während sie im L_1-Stadium lange und schlanke Gebilde darstellen, sind sie ab dem 2. Stadium von gedrungener dreieckiger Form; in diesem Stadium sind sie nicht pigmentiert und von häutiger Struktur, weshalb sie nur schwer zu erkennen sind. Im L_3- und L_4-Stadium werden sie dann größer und zunehmend pigmentiert und sklerotisiert. Die Frage, welche Stadien Mandibeln besitzen, wird in der Literatur nicht einheitlich beantwortet. Nach SPENCER (1926) besitzen die L_3- und L_4-Stadien Mandibeln; BROUSSAL (1966) und COUCHMAN und KING (1977) beobachteten solche Mundwerkzeuge nur bei der L_1 und L_4; schließlich beschreibt STARY (1970) Mandibeln im L_1-, L_2- und L_4-Stadium, bzw. MENNIKEN (1979) in allen vier Larvenstadien. Einigkeit herrscht bei allen Autoren also nur bei der L_4, obwohl gerade die Mandibeln der L_1 schon sehr gut bei schwacher Vergrößerung unter dem LM zu erkennen sind. Aufgrund meiner Untersuchungen teile ich die Auffassung von MENNIKEN (1979), wonach alle Larvenstadien Mandibeln besitzen.

Über die Funktion der segmentalen Bedornung, die bei den ersten 3 Larvenstadien vorhanden ist, können keine konkreten Angaben gemacht werden. Vielleicht dienen sie der Verankerung im Wirtsgewebe. Die L_4 besitzt solche Dornen nicht, sie kann auch darauf verzichten, da sie aufgrund ihrer Größe die Wirtsleibeshöhle nahezu vollständig ausfüllt.

Die histologischen Befunde von Darm und Speicheldrüsen beruhen neben eigenen Beobachtungen auch auf Ergebnissen von MENNIKEN (1971). Sie zeigen grob dargestellt eine stetig zunehmende Wachstumsvergrößerung der betreffenden Organe, wobei es zu einigen Veränderungen im Mitteldarmepithel (z. B. Vakuolenbildung) kommt.

5. Nahrungsaufnahme der Larven von D. rapae durch das Körperepithel

5.1 Einleitung

Viele endoparasitisch lebende Tiere sind in der Lage, Nahrung über das Körperepithel aufzunehmen. Dies gilt in besonderem Maße für jene Tiere, die im Darm leben. Inwieweit auch die endoparasitisch lebenden Larven von Schlupfwespen und im speziellen Fall von D. rapae dazu in der Lage sind, wurde mit Hilfe des Vitalfarbstoffes "Neutralrot" untersucht.

5.2 Material und Methode

Für die Neutralrot-Versuche wurden Larven verschiedener Stadien aus den Läusen herauspräpariert und in eine 0,1 % Neutralrotlösung, gelöst in 0,65 % NaCl gebracht. Nach Versuchsende wurden die Larven in 0,65 % NaCl kurz gespült und dann unter dem LM untersucht. Eine zunächst angesetzte Versuchszeit von 10 Min. erbrachte keine eindeutigen Ergebnisse, zumal die ersten und zweiten Larvenstadien bereits nach wenigen Minuten (0,5 - 3) abstarben und somit nicht mehr ausgewertet

werden konnten. Larven des dritten und vierten Larvenstadiums dagegen zeigten häufig eine Überlebenszeit von über 30 Minuten, in einigen Fällen sogar über 1 Stunde. Um die Lebensdauer von L_1 und L_2 zu verlängern, wurde die Konzentration des an sich für Insekten toxischen Neutralrots auf 0,01 % herabgesetzt. Aber auch in dieser Konzentration lebten die Larven nicht viel länger. Die 0,65 % NaCl-Lösung wurde dann noch durch zwei verschiedene Ringerlösungen, nach BAUER (1974) und PRINGLE (Ruthmann), ersetzt. Gleichzeitig wurden die Lösungen unterschiedlich temperiert (Zimmertemperatur, 15° C, 10° C, 3-4° C). Während diese Modifikationen ohne Einfluß auf die Lebensdauer der ersten Larvenstadien blieben, konnte in einigen Fällen Larven des 2. Stadiums in Pringle-Ringer und bei Zimmertemperatur bis maximal 7. Min. am Leben erhalten werden.

5.3 Ergebnisse

Bei der L_1 und L_2 konnte keine Aufnahme von Neutralrotpartikeln über das Körperepithel festgestellt werden. Dieses Ergebnis muß besonders in Bezug auf die L_1, bedingt durch die nur knappe Überlebenszeit, mit Vorbehalt betrachtet werden. Aber auch die L_3 und die L_4 zeigten, trotz höherer Überlebenszeiten, kaum eine Aufnahme von Farbpartikeln über das Körperepithel; allerdings konnten bei sehr wenigen L_3 sowie bei zwei jungen L_4 eine leicht rötliche Färbung der Epidermis erkannt werden.

In allen Larvenstadien ist auf histologischen Schnitten Darminhalt zu erkennen. Er besteht bereits im L_1-Stadium (an anderer Stelle ausgeführt, s. S. 37) zum Teil aus zellulären Elementen, die nur über die Mundöffnung in den Darm gelangen können. Für das L_1-Stadium möchte ich aber eine geringfügige Aufnahme flüssiger Nahrung (= nicht zellulärer Haemolymphe) über das Körperepithel nicht ganz ausschließen. Bezüglich des histochemischen Aufbaus des Körperepithels von L_1-Larven einerseits und den anderen Larvenstadien andererseits lassen sich signifikante Unterschiede feststellen. Die Auswertung

der Paraffinschnitte aller vier Larvenstadien ergab folgenden Befund:
In der L_1-Larve besteht das Körperepithel aus einer dünnen Kutikula und sehr hohen schlanken Zellen, zwischen denen sehr weitlumige Interzellularräume liegen. In den L_2-, L_3- und L_4-Larven baut sich dagegen das Körperepithel aus flachen und dicht aneinander grenzenden Zellen auf. Es wäre also durchaus denkbar, daß bei den L_1-Larven Haemolymphflüssigkeit des Wirtes über das Körperepithel durch diese Interzellularen in die Leibeshöhle der Larve gelangt, während das bei den anderen Stadien durch das lückenlose Körperepithel verhindert wird.

5.4 Zusammenfassung und Diskussion

Eine Aufnahme von flüssiger Nahrung über das Körperepithel, wie sie z. B. MACKAUER (1959) und SPENCER (1926) beschreiben, ist zwar nicht vollkommen ausgeschlossen, spielt aber ganz sicher keine große Rolle. Die Angabe von MACKAUER (1959), daß die L_1 auf eine Nahrungsaufnahme über das Körperepithel angewiesen ist, weil dieses Stadium keine Verbindung zwischen Vorder- und Mitteldarm aufweist, ist falsch. Anhand von histologischen Schnitten kann man leicht nachweisen, daß bei der L_1 und allen folgenden Larvenstadien eine Verbindung zwischen Vorder- und Mitteldarm besteht, die eine Passage von Nahrungsstoffen durch den Vorderdarm in den Mitteldarm ermöglicht.

6. Funktion des Schwanzanhanges

6.1 Einleitung

Ein Kennzeichen vieler endoparasitisch lebender Hymenopterenlarven des 1. Stadiums, besonders bei Vertretern der Familien Braconidae und Ichneumonidae, ist der Besitz eines Schwanzanhanges. Daß ein ähnliches Organ allen ektoparasitischen Formen fehlt, scheint im Zusammenhang mit der endoparasiti-

schen Lebensweise zu stehen. Seine Funktion ist aber nur bei relativ wenigen Arten eindeutig geklärt.
In der Literatur (ULYETT, 1944) werden folgende Funktionen des Schwanzanhanges diskutiert:

1. Gleichgewichtsorgan
2. Wachstumshilfe zum schnelleren Wachstum der L_1 nach dem Schlüpfen
3. Hilfsorgan bei der Lokomotion im Wirt
4. Excretionsorgan
5. Absorbtionsorgan
6. Respirationsorgan

Da der Schwanzanhang sehr oft mit einem gut entwickelten Tracheensystem durchzogen ist, vertraten zahlreiche Forscher die Meinung, daß dieses "Organ" als (zusätzliches) Respirationsorgan fungieren könnte. Es wurden deshalb entsprechende Untersuchungen durchgeführt.
Unser Untersuchungsobjekt - die L_1-Larve von D. rapae - besitzt weder im Larvenkörper noch im Schwanzanhang ein Tracheennetz; eine O_2-Aufnahme (aus der Wirtshaemolymphe) muß deshalb über die Körperoberfläche erfolgen. Inwieweit nun der Schwanzanhang als Respirationsorgan fungiert, sollte durch einen Versuch überprüft werden, der nachfolgend beschrieben wird.

6.2 Material und Methode

In Anlehnung an entsprechende Versuche von THORPE (1932) wurden Larven des 1. Larvenstadiums benutzt. Die Larven wurden sofort nach ihrer Isolierung aus dem Wirt gewaschen, in einem Tropfen einer 0,65 % NaCl-Lösung bzw. Insektenringerlösung nach Pringle (RUTHMANN, 1966) auf einen Objektträger überführt und mit einem Deckgläschen bedeckt. Unter das Deckgläschen wurde dann mit Hilfe einer Pipette ein flüssiger pH-Indikator hinzugegeben, dessen Umschlagsbereich ungefähr im Neutralen liegt. Ich verwendete Phenolrot mit einem eingestellten (Na_3CO_3) pH von 7,3 - 8,3. Wie schon bereits be-

schrieben (s. Nahrungsaufnahme über das Körperepithel) war die Lebensdauer der L_1 sehr kurz. Auch hierbei konnte die Lebenserwartung der L_1 durch Änderungen in der Konzentration der Salzlösung sowie des pH-Indikators nicht wesentlich verbessert werden. Während der Versuchsdurchführung wurden die Larven unter dem Lichtmikroskop beobachtet. Bei einer CO_2-Abgabe erfolgte an den betreffenden Stellen um die Larve herum ein Farbumschlag des pH-Indikators (zum Sauren).

6.3 Ergebnisse

Aufgrund der kurzen Lebensdauer der L_1-Larven wurde der Versuch an einer entsprechenden Anzahl von Versuchstieren (14) wiederholt. Bei den meisten Larven konnte kein CO_2-Ausstoß beobachtet werden. Bei einigen wenigen (3) Larven war ein CO_2-Ausstoß zwar erfolgt, aber der Farbumschlag lag stets um die Körperoberfläche und in keinem Falle in der Nähe des Schwanzanhanges.

6.4 Zusammenfassung und Diskussion

Der Schwanzanhang der L_1 von *D. rapae* ist bereits unter der Lupe deutlich erkennbar. Auffällig ist eine starke Bedornung, die in mehreren Reihen rundherum angeordnet ist. Er ist nur bei der L_1 vollständig entwickelt.

Die Möglichkeiten seiner Funktion, die ULYETT (1944) aufzählt, seien hier kurz diskutiert.

Gleichgewichtsorgan
Daß die Parasitoidenlarven sich im Wirt orientieren, bzw. eine longitudinale Stellung einnehmen muß, wie ULYETT dieses in Bezug auf CAMERON (1938) beschreibt, halte ich für unwahrscheinlich. Die Larve lebt in ihrem Medium und man findet sie in allen möglichen Stellungen, an unterschiedlichen Stellen innerhalb der Laus. Außerdem, wenn eine Orientierung notwen-

dig wäre, müßte sich zumindest die L_2 (aufgrund ihrer geringen Größe) auch im Wirt orientieren können. Da die L_2 aber keinen voll entwickelten Schwanzanhang mehr besitzt, kann diese Orientierungshilfe, wenn überhaupt vorhanden, nicht in diesem Anhang sitzen.

Bewegung

Bewegungsmöglichkeit, bzw. -unterstützung der Larve mit Hilfe des Schwanzanhanges scheint insofern einleuchtend zu sein, weil die L_1 relativ klein ist und somit noch die Möglichkeit besäße sich in ihrem Wirt über einige Distanzen zu bewegen, um unter Umständen bessere Nahrungsquellen aufzusuchen. Man muß nämlich berücksichtigen, daß D. rapae ihren Wirt wahllos ansticht, d. h. die Eiablage kann an jeder Körperstelle in die Blattlaus erfolgen. Aber selbst unter diesen Voraussetzungen gelangt das Ei immer dorthin, wo die dann schlüpfende L_1-Larve genügend Nahrung vorfindet.
Die in aufpräparierten Läusen gefundenen Larven zeigten außer peristaltischen Bewegungen des Darmes, keinerlei Bewegungen zum Zwecke der Fortbewegung. Auch auf den zahlreichen histologischen Schnitten ließen sich keine Hinweise auf eine Fortbewegung mit Hilfe des Schwanzes feststellen.

Wachstum

Nach einer reinen Hypothese, die durch nichts untermauert ist, soll der Schwanzanhang zum schnelleren Wachstum der L_1 nach dem Schlupf aus dem Ei dienen. Große Wachstumsphasen finden aber auch ohne Schwanzanhang während der einzelnen Larvenstadien statt. Eine andere Frage ist, wieso es dann keinen Schwanzanhang bei den ektoparasitischen Hymenopterenlarven gibt.

Absorbtion

THORPE (1934) führte aus, daß der Schwanzanhang von Cryptochaeten (Diptera), der in gewisser Weise den analen Papillen von Moskitolarven ähnelt, Wasser und einige bestimmte Salze

absorbieren könnte.

Exkretion

Die Ausscheidung von Exkretionsprodukten stellt für den Endoparasiten eine gewisse Gefahr dar. Erstens verändern sie damit unter Umständen ihr Nährmedium und können sich dadurch indirekt selbst schädigen; zweitens können sie den Wirt frühzeitig schwächen oder zu physiologischen Abwehreaktionen gegenüber diesen Produkten veranlassen und sich somit wieder selbst schädigen. Als Maßnahme, eben diese Exkretion zu verhindern, sei auf die geschlossene Verbindung zwischen Mittel- und Enddarm hingewiesen. Außerdem bilden sich gerade zu diesem Zwecke bei der L_4 Uratzellen, welche die Aufgabe haben, Abfallprodukte innerhalb der Larve zu speichern.

Respiration

Ähnlich den Blutkiemen bei einigen wasserlebenden Insektenlarven, könnte auch der Schwanzanhang der endoparasitisch lebenden Hymenopterenlarven des 1. Larvenstadiums der Respiration dienen. Aber schon THORPE (1934) stellte anhand einer Reihe von Versuchen an einigen Hymenopterenlarven fest, daß dieses nicht der Fall ist. Auch bei D. rapae scheint der Schwanzanhang, wie eigene Versuche ergaben, nicht als Respirationsorgan zu fungieren.

Bei allen diesen Fagestellungen über die Funktion des Schwanzanhanges, bleibt eine ganz einfache Möglichkeit unerwähnt, die sich auf die erst unter dem REM klar erkennbare Dornenstruktur des Schwanzes bezieht; nämlich die, der Verankerung im Wirt.

Die, bereits an anderer Stelle beschriebenen Dornen auf der Dorsalseite der Larven könnten bei dieser Aufgabe unterstützend wirken. Ab dem L_2-Stadium kann aufgrund der Größe der Larven auf den Schwanz als "Halteorgan" verzichtet werden. Zur Fixierung im Wirt genügen dann die Dornen auf dem Körper. Die Funktion des Verankerns scheint auch insofern notwendig zu sein, weil isolierte Larven keine Anzeichen einer Vorwärts-

bewegung zeigen.

7. Superparasitismus

7.1 Einleitung

Unter Superparasitismus versteht man, die Parasitierung ein- und desselben Wirtes durch mehrere Parasiten ein- und derselben Art. Ihm gegenüber steht der Multiparasitismus, d. h. die Parasitierung ein- und desselben Wirtes durch Parasiten unterschiedlicher Art. Der Multiparasitismus darf nicht mit dem Hyperparasitismus verwechselt werden, bei dem es zur Parasitierung des Parasiten in einem Wirt kommt (Abb. 15).

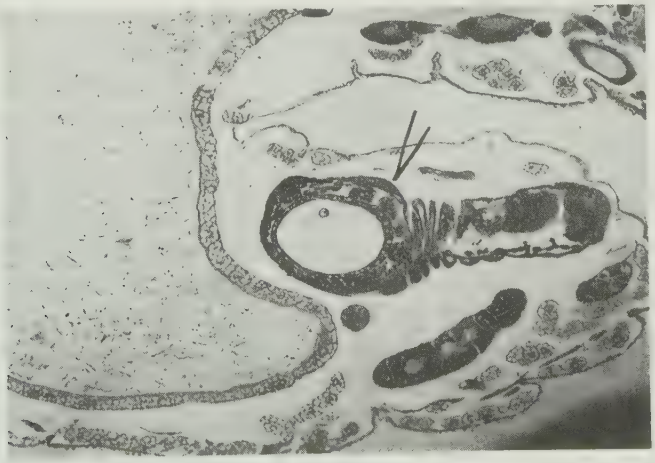

Abb. 15
Querschnitt durch eine isolierte L_4-Larve mit Hyperparasiten ▼
(Azan; 80-fache Vergrößerung)

Der Superparasitismus ist unter den Aphidiiden weit verbreitet (z. B. STARY, 1970; HOFSVANG, 1983). Nach SINGH und SINHA (1982) bestehen die folgenden Gründe, die zu einer Superparasitierung führen können:

1. Beim Anstich werden mehr als ein Ei abgelegt.
2. Der Parasitoid kann einen bereits parasitierten Wirt nicht erkennen.
3. Der Parasitoid legt ein zweites Ei ab, bevor (wenn überhaupt) eine "search determing substance" gebildet ist.
4. Mehrere Parasitoide legen gleichzeitig ihre Eier in ein- und demselben Wirt ab.
5. Der Parasitoid befindet sich im "Legedruck", sei es, weil er nur noch parasitierte Wirte vorfindet, oder bislang keine Wirte fand.

Die wichtigste Ursache für eine Superparasitierung ist zweifellos die Unfähigkeit des legebereiten Schlupfwespenweibchens zwischen parasitierten und unparasitierten Wirten zu unterscheiden.
Von vielen Schlupfwespen ist bekannt, daß sie mit Hilfe von sensorischen Sinneszellen am Ovipositor und (oder) auf den Antennen, beim Anstich des Wirtes erkennen können, ob dieser bereits parasitiert ist, oder nicht. Dies ist z. B. unter den Aphidiiden von den Arten Lysiphlebus testaccies und Praon aguti bekannt (SEKHAR, 1957). Dagegen sind andere Aphidiiden, z. B. auch unser Untersuchungsobjekt D. rapae zu dieser Diskriminierung nicht befähigt (WILBERT, 1967; SEDLAG, 1964; HAFEZ, 1961). Da es beim Superparasitismus stets zur Ausschaltung überzähliger Parasitoide kommt, d. h. sich nur eine einzige Larve entwickelt, stellt sich die Frage, wie sich die Eleminierung überzähliger Larven vollzieht.

7.2 Material und Methode

Blattläuse, verschiedene Stadien der Art B. brassicae, wurden mit legebereiten Weibchen von D. rapae zusammen gehalten. Anschließend wurden sie unter dem Binokular aufpräpariert und unter dem LM bei schwacher Vergrößerung auf Schlupfwespenlarven hin untersucht. Die verwendeten Blattläuse stammten sowohl aus dem Freiland, als auch aus Laborzuchten (s. Zucht).

7.3 Ergebnisse

Bei mehreren hundert Blattläusen, die aufpräpariert wurden, ergab sich ein unterschiedlicher Parasitierungsgrad. Die Anzahl der superparasitierten zu den einfach parasitierten betrug ungefähr 10 %, gleichgültig ob es sich dabei um Blattläuse aus dem Freiland oder aus Laborzuchten handelte. Insgesamt wurden 30 superparasitierte B. brassicae gefunden.

Davon waren 26 Läuse mit 2 Larven
3 Läuse mit 3 Larven
1 Laus mit 4 Larven befallen.

Die 26 Blattläuse mit 2 Parasitoiden beherbergten folgende Larvenstadien von D. rapae:

a) 8 Läuse nur L_1-Stadien
b) 9 Läuse je ein L_1 und L_2-Stadium
c) 2 Läuse je ein L_1 und L_3-Stadium
d) 3 Läuse je ein L_1 und L_4-Stadium
e) 1 Laus nur L_2-Stadien
f) 1 Laus je ein L_2 und L_4-Stadium
g) 2 Läuse nur L_4-Stadien

In den 8 Blattläusen (a), die nur L_1-Stadien enthielten, lebte jeweils nur eine Larve; in einer Blattlaus waren beide L_1-Larven tot. In den 9 Blattläusen (b), die je eine L_1 und eine

L_2 enthielten, lebten in 6 Läusen alle Larven, in 2 Blattläusen war die L_1 in einer die L_2 abgestorben. In den fünf Fällen (c + d), bei denen die Läuse je eine L_1 und eine L_3 oder L_4 enthielten, lebten, bis auf eine L_1 und eine L_4 (in verschiedenen Wirten) alle Larven. In der Blattlaus (e) mit zwei L_2-Larven war eine tot. Die Larven in den übrigen drei B. brassicae (f + g) waren zum Zeitpunkt der Präparation alle am Leben.

In den drei Blattläusen, die jeweils drei Parasitoide enthielten, wurden folgende Larvenstadien von D. rapae festgestellt:

a) 1 Laus — nur L_1-Stadien
- 2 lebend, 1 tot

b) 1 Laus — eine lebende L_1, eine tote L_3 und eine L_4 kurz vor dem Absterben

c) 1 Laus — zwei L_2 und eine L_4

Die vierfach superparasitierte Blattlaus enthielt nur L_1-Larven, von denen nur noch eine lebte. Die meisten toten Larven befanden sich im Zustand der Auflösung. An jenen Larven, die sich noch nicht oder am Beginn der Auflösung befanden, wurden keine äußeren Verletzungen erkannt, wie sie z. B. durch den Angriff mit den Mandibeln einer anderen Larve entstehen müßten. Die überlebenden Larven zeigten alle ein normales Verhalten. Äußere Verletzungen konnten unter dem LM bei keiner einzigen dieser Larven entdeckt werden. Aber jene Larven, die zu mehreren im selben Wirt überlebten, waren erheblich kleiner, als die Larven, die sich alleine, d. h. ohne Konkurrenz im Wirt entwickeln. Eine L_4 entsprach ihrer Größe nach eher einer L_2, aber alle typischen L_4-Merkmale waren vorhanden (Tracheensystem mit Stigmenöffnungen, Uratzellen, Form der Mandibeln).

Die Häufigkeit des Superparasitismus war im Labor und Freiland ungefähr gleich.

7.4 Diskussion

Als einziger primärer Parasitoid von B. brassicae, neigt D. rapae dazu seinen Wirt zu superparasitieren. Dabei kann die Zahl der in einem einzigen Wirt abgelegten Eier unterschiedlich sein. Der Regelfall ist die Entwicklung von 2 Parasitoideneiern in einem Wirt. Aber auch mehr als zwei können auftreten. Die von HAFEZ (1961) gefundene Anzahl von 13, bzw. von SENGONCA und KLINGAUF (1973) von 15 Larven in einer einzigen Laus dürften Ausnahmen darstellen. Bei unseren Untersuchungen konnten im Höchstfall 4 Larven in einer Laus beobachtet werden. Die vorliegenden Befunde lassen also zunächst den berechtigten Schluß zu, daß D. rapae nicht zwischen einem parasitierten und unparasitierten Wirt unterscheiden kann. Aber aufgrund der relativ niedrigen Superparasitierungsrate, sind wohl doch gewisse Einschränkungen bezüglich dieser Aussage zu machen. Die insgesamt gefundene Anzahl von superparasitierten im Verhältnis zu einfach parasitierten Blattläusen beträgt nach einer Hochrechnung ungefähr 10 %. Setzt man die Anzahl der superparasitierten Läuse gleich 100, so ergibt sich dabei
eine zweifache Parasitierung von 86,7 %
eine dreifache Parasitierung von 10,0 %
eine vier- und höherfache Parasitierung von 3,3 %.

Bezogen auf die Gesamtparasitierungsrate ergibt sich
eine zweifache Parasitierungsrate von 8,67 %
eine dreifache Parasitierungsrate von 1,0 %
eine vier- und mehrfache Parasitierungsrate von 0,33 %
gegenüber einer einfachen Parasitierung von 90 %.

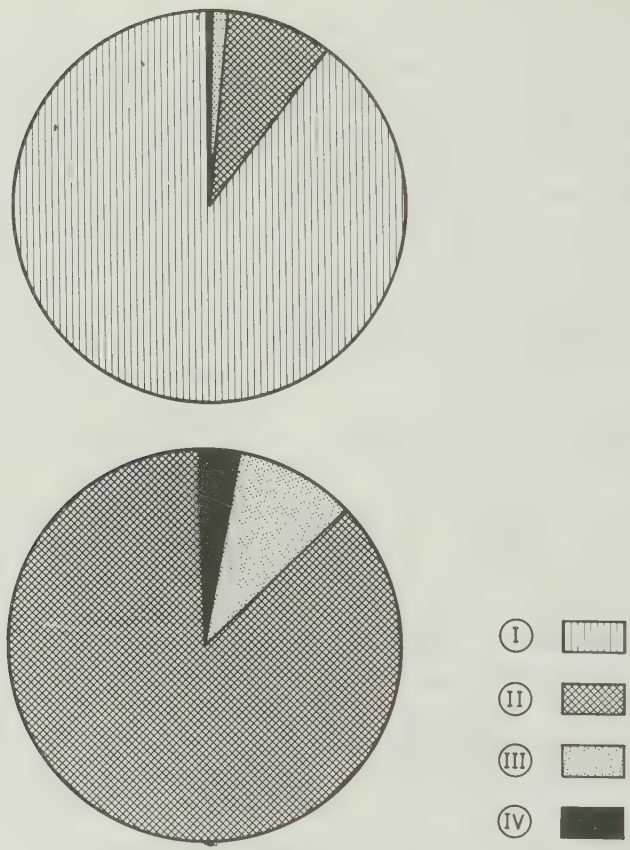

Abb. 16
Häufigkeit des Superparasitismus von D. rapae in B. brassicae
I= 1-fache, II= 2-fache, III= 3-fache, IV= 4- und mehrfache Parasitierung.
Obere Darstellung: Häufigkeit der verschiedenen Parasitierungsraten von der einfachen bis zur mehrfachen Parasitierung.
Untere Darstellung: zweifache bis mehrfache Parasitierung

7.4.1 Zur Frage der Fähigkeit von D. rapae zwischen parasitierten und unparasitierten Wirten zu unterscheiden (Diskriminationsfähigkeit)

Der Unterschied in der Anzahl von einfach- und superparasitierten B. brassicae ist zwar ziemlich hoch, aber doch nicht zu hoch, um Superparasitierung durch D. rapae nur als "Unfall" darzustellen. Man muß dabei beachten, daß die Möglichkeit, eine bereits parasitierte Laus innerhalb einer Läusekolonie anzustechen, zumindest am Anfang der Parasitierung durch D. rapae , relativ gering ist. Andererseits konnte ich auch keine bemerkenswerte Steigerung der Superparasitierungsrate in fast nur parasitierten Läusekolonien feststellen. Das Gleiche trifft auch für Laborzuchten zu, bei denen den Schlupfwespen nur eine begrenzte Anzahl von Wirten zur Verfügung standen. Dagegen kam es bei steigender Parasitierungsextensität immer häufiger zur Eiablage in kleineren Larvenstadien der Blattlaus. Dieses Verhalten zeigt, daß D. rapae, obwohl im Normalfall ältere und somit größere Nymphenstadien zum Anstich ausgewählt werden, auch auf nicht "optimale" Wirte zurückgreift, wenn die anderen "besetzt" sind. Das würde aber bedeuten, daß D. rapae doch, wenn auch nur in geringem Maße in der Lage ist, bereits parasitierte Wirte zu erkennen.

Dies wird auch durch die Beobachtung belegt, daß die zweifache Belegung eines Wirtes weitaus am häufigsten ist, während eine noch höhere Parasitierungsintensität in Ausnahmefällen auftritt.

Die Larvenstadien von D. rapae in einem superparasitierten Wirt sind zu 85 % entweder gleich, oder es handelt sich um direkt aufeinander folgende Stadien (z. B. L_1 und L_1; L_1 und L_2; L_4 und L_4), während ein nur geringer Prozentsatz von Wirten Larven enthält, die altersmäßig weiter auseinander liegen (z. B. L_1 und L_3; L_1 und L_4).

Dies spricht für die Fähigkeit der D. rapae-Weibchen, zumindest jene Wirte zu erkennen, die ältere Parasitenstadien (und damit größere) enthalten.
Das Auftreten von zwei gleichaltrigen Parasitoidenlarven in einem Wirt, spricht auch für die Möglichkeit, daß die Schlupfwespenweibchen während des Anstiches mehr als ein Ei abgelegt haben (z. B. durch Streß oder Legedruck). Denn die Wahrscheinlichkeit, daß zwei gleichaltrige Larven aus Eiern desselben Weibchens geschlüpft sind, ist wesentlich höher, als daß zwei D. rapae-Weibchen zur gleichen Zeit oder kurz hintereinander dieselbe Laus belegt haben. Sollte diese Annahme zutreffen, würde die Superparasitierung durch verschiedene Weibchen nur noch 6 % der Gesamtparasitierung ausmachen, was wiederherum für eine - wenn auch eingeschränkte - Differenzierungsmöglichkeit zwischen parasitierten und nicht parasitierten Wirten durch D. rapae spräche. Wie und wodurch D. rapae diese Unterscheidung trifft, ist noch vollkommen ungeklärt, weil man der Art bisher diese Fähigkeit abgesprochen hat.
Von anderen Schlupfwespen ist bekannt, daß sie zur Diskriminierung befähigt sind. Diese Auswahl wird - je nach Art - auf verschiedene Art und Weise getroffen (SALT, 1934; BRAGG, 1974; PODOLER u. MENDEL, 1977; WYLIE, 1965).
Die Signale, die sie dabei percipieren sind chemischer Natur und werden mit den Antennen und/oder dem Ovipositor wahrgenommen.
So kann der Wirt nach erfolgter Eiablage mit einer chemischen Substanz, die in akzessorischen Drüsen des weiblichen Geschlechtsapparates produziert wird, markiert werden. Dadurch werden andere Weibchen derselben Art von einer Eiablage abgehalten, wenn sie diese Substanz mit den Antennen wahrnehmen. Diese Art der Markierung ist unter Eiparasitoiden (z. B. Gattung Trichogramma) weit verbreitet.
In anderen Fällen wird durch den Parasitoiden die Zusammensetzung der Wirtshaemolymphe verändert. Eine 2. Schlupfwespe nimmt diese Veränderung beim Anstich mit Hilfe von Sensillen

auf ihrem Ovipositor wahr, und die Eiablage unterbleibt.

Auch innerhalb der Aphidiiden sind einige Arten zur Unterscheidung in der Lage (ARTHUR, 1944; SEKHAR, 1957; HART et al, 1978). Allerdings ist der genaue Mechanismus noch nicht bei allen Arten vollständig bekannt. Dabei spielt auch sicherlich die Größe der Schlupfwespenlarve in der Laus eine Rolle (BROUSSAL, 1966).
GARDNER et al. (1984) stellten bei Sphidius rhopalosiphi DeStef, einem Parasitoiden von Metopolophium dirhodum (WLK) (Bleiche Getreideblattlaus) fest, daß die Blattlausschlupfwespe selbst keine Unterscheidung treffen kann, aber das Abwehrverhalten von M. dirhodum sich nach dem Anstich für einige Zeit erhöht, so daß die Laus danach auf erneute Anstichversuche heftiger reagiert und dadurch eine weitere Eiablage häufiger verhindert wird. CLOUTIER (1984) hat bei Aphidius nigripes beobachtet, daß die Bevölkerungsdichte der Läusekolonie einen Einfluß auf die Superparasitierung hat. Je dichter eine Kolonie ist, um so mehr Läuse werden parasitiert. Mit der Abnahme der Dichte nimmt allerdings nicht die Anzahl der vom Schlupfwespenweibchen gelegten Eier ab, sondern es erhöht sich die Superparasitierungsrate. SENGONCA und KLINGAUF (1973) kamen bei ihren Untersuchungen über die Abhängigkeit von ökologischen Faktoren auf das Verhalten von D. rapae und ihren Wirten (B. brassicae und Myzus persicae) zu dem Ergebnis, daß die Aktivität der Aphiden mit der Temperatur zunimmt. Der weibliche Parasit paßt sich diesem Verhalten durch Erhöhung seiner eigenen Aktivität an, wobei es dann zu vermehrtem Superparasitismus kommt. Auch dieser Umstand verdeutlicht, daß D. rapae seinen Wirt nicht wahllos superparasitiert, sondern erst durch äußere Umstände, in diesem Fall Aktivitätserhöhung der Laus (verbunden mit Streß der Schlupfwespe?) vielleicht nicht mehr die "Zeit" findet zur Unterscheidung zwischen parasitiert und nicht parasitiert.

Während der Entwicklung des Parasitoiden, lassen sich an der

Wirtslaus keine Veränderungen beobachtet, solange sich der Parasitoid im L_1- bzw. L_2-Stadium befindet. Erst an dem L_4-Stadium kann man eine parasitierte Laus an ihrer äußeren Form, ihr Körper scheint dann ballonartig aufgetrieben, erkennen. Wie COUCHMAN und KING (1979) festgestellt haben, wird durch die Anwesenheit einer Parasitoidenlarve, die Nahrungsaufnahme des Wirtes beeinflußt. Während des Eistadiums und der Embryonalentwicklung von D. rapae bleibt die Menge der aufgenommenen Nahrung im Verhältnis zu unparasitierten Blattläusen gleichen Alters unverändert. Während des L_1-Stadiums von D. rapae sinkt hingegen die Nahrungsaufnahme, normalisiert sich wieder während der Präsenz des L_2-Stadiums, um dann während des 3. und 4. Larvenstadiums des Parasitoiden erheblich abzunehmen.

7.4.2 Eliminierung überzähliger D. rapae-Larven

In der Literatur ist man bisher davon ausgegangen, daß überzählige Larven von D. rapae in einem Wirt frühzeitig eliminiert werden. Eine solche Ausschaltung soll entweder mechanisch, mit Hilfe der besonders bei der L_1 mächtig ausgebildeten Mandibeln (VEVAI, 1942; FISHER, 1971; BROUSSAL, 1963) oder chemisch (enzymatisch) (SPENCER, 1926; MACKAUER, 1959) geschehen. Die entsprechenden Larven sollten dabei im L_1-Stadium absterben, wobei allerdings nicht immer die jüngere Larve zu Tode kommt (MENNIKEN, 1979; SENGONCA u. KLINGAUF, 1973).

Aufgrund eigener Untersuchungen kann ich die oben gemachten Beobachtungen nicht so ohne weiteres bestätigen. Überzählige Larven wurden fast nur immer dann eliminiert, wenn sich die konkurrierenden Larven im gleichen Larvenstadium befanden. Sind dagegen Larven unterschiedlicher Alter im Wirt (z. B. L_1 und L_2, L_1 und L_3, L_2 und L_4), so überleben in den meisten Fällen zunächst beide (bei zweifacher Parasitierung). Am Ende der Larvalzeit eines Parasitoiden geht schließlich auch die

zweite zugrunde, so daß letztendlich aus einem Wirt nur ein adultes Tier schlüpft. Die Ursache dafür ist aber nicht die direkte Bekämpfung der Konkurrenten, sondern vielmehr der Nahrungs- und (oder) Sauerstoffmangel innerhalb des Wirtes.

Die Art der Eliminierung bei gleichen Larvenstadien wirft noch zahlreiche Fragen auf. Die Ausschaltung überzähliger Konkurrenten kann entweder mechanisch mit Hilfe der Mandibeln, oder chemisch, durch Ausscheidung von lytischen Enzymen geschehen.
Eine mechanische Ausschaltung des Konkurrenten ist im Falle von D. rapae aus folgenden Gründen höchst unwahrscheinlich:

1. Bei der Präparation der Läuse, sowie auf histologischen Schnitten superparasitierter Läuse, konnte man erkennen, daß in den meisten Fällen die Larven räumlich weit voneinander getrennt im Wirt lagen.

2. Abgestorbene Larven befanden sich meistens im Zustand der Auflösung und zeigten keine mechanisch bedingten Verletzungen.

3. Überlebende Larven wiesen nie irgendwelche Verletzungen auf, wie sie bei einer gegenseitigen Bekämpfung zweier L_1-Larven, zumindest bei einigen Überlebenden, vorhanden sein müßten. Auch konnte nie der mögliche Fall beobachtet werden, daß sich beide Larven gegenseitig abgetötet haben.

Deshalb scheint sich im Falle von D. rapae die Ausschaltung des Konkurrenten "chemisch" zu vollziehen. Dies gilt aber nur für die Larven des L_1-Stadiums.

Folgende Hypothesen können aufgestellt werden:

1. Die zuerst schlüpfende Larve gibt "chemische" Substanzen ab, vor denen sie selbst geschützt ist, aber durch wel-

che die zweite schlüpfende Larve abgetötet wird, bevor diese eine "Schutzhülle" bilden kann. Die Wirksamkeit dieser Substanz würde sich aber nur auf die Zeit des L_1- Stadiums beschränken.

2. Da die Wahrscheinlichkeit, daß zwei gleichaltrige Larven in einem Wirt aus Eiern vom selben D. rapae-Weibchen geschlüpft sind, relativ hoch ist, ergibt sich die Möglichkeit, daß ein Kampf nur zwischen Geschwistern stattfindet. Hierbei müßte entweder von der ersten L_1, oder aber vom Wirt ein Abwehrmechanismus gebildet werden, der nicht artspezifisch wirkt, sondern mehr oder weniger individuell.

Welche Art von Mechanismen zur Ausschaltung des Konkurrenten tatsächlich entwickelt sind, bleibt zunächst ungeklärt. Aber auch wenn sich Larvenstadien verschiedenen Alters im Wirt befinden, kann es zum frühzeitigen Absterben einer Larve kommen. Dies kann sowohl die jüngere als auch die ältere Larve sein. In diesen Fällen handelt es sich wohl um einen "natürlichen" Tod der Larve, denn auch in den einfach parasitierten Läusen fand man, zwar selten, tote Larven. In der Regel entwickeln sich zwei verschieden alte Larvenstadien von D. rapae im Wirt B. brassicae. Dabei kann es vorkommen, daß sich die Parasitoide durch ein geringeres Wachstum den gegebenen Bedingungen, d. h. dem begrenzten Nahrungsangebot anpassen. Auch WILBERT (1968) beobachtete bei Aphelinus asychis den Einfluß der Nahrungsmenge auf das Größenwachstum der Schlupfwespenlarve. In kleinen Läusen entwickeln sich kleinere Schlupfwespenlarven, was natürlich zur Folge hat, daß auch kleine Imagines schlüpfen. Da dieses Phänomen auch in superparasitierten Wirten auftritt, ist zu vermuten, daß ein frühzeitiges Absterben überzähliger Larven nicht auf Nahrungsmangel zurückzuführen ist.

7.5 Zusammenfassung

Superparasitismus kommt auch bei D. rapae vor. Man führte dieses zunächst darauf zurück, daß der Parasitoid nicht in der Lage ist zwischen parasitierten und nicht parasitierten Wirten zu unterscheiden. Aber es gibt zahlreiche Hinweise dafür, daß dieses nicht unbedingt der Fall sein muß. Dafür spricht die Prozentzahl von superparasitierten Läusen. Aber auch die Stadien der Parasitoidenlarven in einer Laus, die in der Mehrzahl gleichaltrig waren, bzw. direkt aufeinanderfolgten, zeigen an, daß D. rapae vielleicht in der Lage ist, zumindest größere Larvenstadien in einem Wirt zu erkennen. Unter Umständen kann eine höhere Superparasitierung auch durch Verhaltensänderung des Wirtes eingeschränkt werden.
Das bei einer Superparasitierung überzählige Larven frühzeitig eliminiert werden, stimmt nur, wenn es sich um zwei L_1-Stadien handelt. Bei verschiedenen Larvenstadien überleben in den meisten Fällen, zumindest bei einer zweifachen Parasitierung, zunächst alle. Schließlich schlüpft pro superparasitierte Laus aber nur eine adulte Schlupfwespe.
Über die Art und Weise der Eliminierung bei gleichalten Larvenstadien, läßt sich nur sagen, daß diese nicht auf mechanische (mit den Mandibeln) Bekämpfung der konkurrierenden Larven beruht. Es muß sich um eine chemische (enzymatische) Eliminierung handeln, über deren Funktionsweise bisher nur einige Hypothesen erstellt werden konnten.

8. Histochemische Untersuchungen mit besonderer Berücksichtigung von Darm und Speicheldrüsen der Larven von Diaeretiella rapae

8.1 Einleitung

Untersuchungen zur Ernährungsphysiologie der Larven von D. rapae erfordern vorab histologische und histochemische

Untersuchungen der betreffenden Organe. Über die Histologie des Darms sind wir hinreichend informiert (s. Kapitel "Morphologie und Histologie"). Hingegen existieren kaum histochemische Untersuchungen des Darms und der Speicheldrüsen von D. rapae.
Die von mir durchgeführten histochemischen Untersuchungen waren zum größten Teil histochemische Färbeverfahren, d. h. Methoden bei denen entweder bestimmte chemische Stoffklassen oder deren Zwischen- bzw. Endprodukte (bei Enzymen) durch Reaktionen mit den eingesetzten Substanzen zu einer bestimmten Färbung führten.
Die Untersuchungen bezogen sich auf Proteine, Kohlenhydrate, Lipide und Enzyme.

Proteine bilden die wichtigsten Bestandteile einer lebenden Zelle. Zahlreiche Lebensfunktionen sind an Proteine gebunden. So übernehmen sie die Funktion als Energieträger, kontraktiler- oder Stütz- und Gerüstelemente und den Transport von lebensnotwendigen Substanzen.

Kohlenhydrate sind unter den Nahrungsstoffen (Proteine, Fette, Kohlenhydrate) die am häufigsten vertretenen und somit die wichtigsten Energieträger. Es sind die niedermolekularen Mono- und Disaccharide und die hochmolekularen Polysaccharide, wie auch alle Substanzen (Derivate), die zu den Sacchariden in naher Beziehung stehen.

Lipide oder Fette bilden die eigentlichen Reservestoffe in biologischen Systemen. Aufgenommene Nahrung, die nicht sofort verwertet werden kann, wird größtenteils in Fette umgewandelt und in entsprechenden Geweben eingelagert, um bei Bedarf wieder abgebaut zu werden.

Enzyme sind eine besondere Gruppe von Proteinen, die an allen Lebensvorgängen, Stoffwechselfunktionen beteiligt sind. Sie wirken als Katalysatoren bei allen chemischen Umsetzungen

im Organismus und sind meist spezifisch an bestimmte chemische Reaktionen gebunden. Bei der Vielzahl der chemischen Reaktionen, die im Organismus ablaufen, überrascht es nicht, daß eine größere Anzahl verschiedener Enzyme existiert. Bei meinen Untersuchungen habe ich mich deshalb auf die Gruppe der Phosphatasen und unspezifischen Esterasen beschränkt.

8.2 Material und Methode

Für die histochemischen Versuche wurden isolierte Larven aller Stadien von D. rapae in verschiedenen Fixierungsgemischen, je nach Art der Weiterbehandlung fixiert.

Als Fixierungsmedien dienten:

Formol	1 : 4	(in Aqua dest.)
Formol-Kalzium		(nach Baker)
Gendre		
Osmiumtetraoxyd		(-dämpfe)
absoluter Äthanol		
Glutaraldehyd		

Die Fixierungsdauer entsprach den in der Literatur angegebenen Zeiten. Als Literatur diente, auch für die nachfolgenden histochemischen Nachweise: ROMEIS (1968); SPANNHOF (1967); RUTHMANN (1966); CZIHAK (1964); BURCK (1982).

Erstellung der Paraffinschnitte s. Kapitel "Morphologie und Histologie".

Erstellung der Gefrierschnitte:
Für die Gefrierschnitte, die hauptsächlich zur Bestimmung des Lipidgehaltes und der Enzymaktivität notwendig waren, wurden die entsprechenden Objekte entweder in Formol-Kalzium fixiert oder ohne Fixierung weiterbehandelt. Die Larven wurden in Wasser abgespült, bei Zimmertemperatur in das Gefriermedium (Tissue Tek II) überführt und für 1-2 Stunden ebenfalls bei Zimmer-

temperatur aufbewahrt. Dies ist notwendig, damit das Einbettungsmittel die Objekte vollständig durchdringen kann. Ein zu frühes Einfrieren kann zur Bildung großer Luftblasen in den Objekten führen, was das nachfolgende Schneiden sehr erschwert und häufig zu Schnittverlusten führt. Eingebettetes Material, was nicht sofort verarbeitet wurde, wurde im Kühlschrank bei ca. 5° C gelagert. Anderenfalls wurde es im Gefriermikrotom (Tissue Tek II Cryostat) bei mindestens -20° C eingefroren und anschließend 10 µm dick geschnitten. Die Schnitte wurden zunächst ohne Zusatz auf Objektträger gebracht. Hierbei zeigte sich allerdings, daß während der anschließenden Färbetechnik oder während des Inkubationsbades (bei Enzymnachweisen) ein großer Teil der Schnitte abschwamm. Das trifft besonders bei Schnitten kleinerer Larvenstadien zu. Durch vorheriges Einschmieren der Objektträger mit Eiweißglyzerin konnte das Abschwimmen der Schnitte nur geringfügig verändert werden. Um diesen Nachteil auszugleichen, mußten sehr viele Schnitte angefertigt werden.

Histochemische Färbemethoden

Die verwendeten Methoden (einschließlich der Zeitangaben) entsprechen den jeweiligen Literaturangaben. Wo dennoch Modifikationen erfolgten, wird an entsprechender Stelle darauf hingewiesen.

Proteinnachweis

Der Proteinnachweis wurde an Paraffinschnitten durchgeführt. Die Schnitte wurden teilweise mit Eiweißglyzerin und - um eventuelle Fehler durch Anfärbung des Eiweißglyzerins zu vermeiden - nur mit Aqua dest. auf die Objektträger aufgebracht.

Folgende Methoden kamen zur Anwendung:

Quecksilber-Bromphenolblau (RUTHMANN, 1966)
Lösung: 1 % $HgCl_2$; 0,05 % Bromphenolblau in 2 % wässeriger Essigsäure

Die entparaffinierten und gewässerten Schnitte werden zwei Stunden bei Zimmertemperatur in die Färbelösung eingebracht, kurz in 0,5 % Essingsäure gespült, danach in absolutem Butylalkohol eingestellt und schließlich mit Entellan eingedeckt.
Ergebnis: Proteine blau angefärbt.

FCF (Fastgreen) (RUTHMANN, 1966)
Lösung: 0,1 % Fastgreen mit verdünnter HCl auf pH 2 eingestellt

Die entparaffinierten und gewässerten Schnitte werden 1 Stunde in die FCF-Lösung eingestellt, kurz in Aqua dest. gewaschen und danach in absoluten Alkohol überführt. Weiterbehandlung wie üblich.
Ergebnis: Die basischen Gruppen der Proteine sind bei niedrigem pH positiv geladen und reagieren mit (saurem) Fastgreen mit einer Grünfärbung.

Tri-PAS (s. Kohlehydrate)

Millon-Reaktion (SPANNHOF, 1967)
Lösung: 5 % $HgSO_4$ gelöst in 5 % H_2SO_4; pro 100 ml dieser Lösung 0,25 ml 0,25 % $NaNO_2$ einzufügen.

Die entparaffinierten und gewässerten Schnitte werden für 30-60 Minuten bei 60° C in Millons-Reagenz eingestellt. Anschließend Schnitte in der Lösung bis auf Zimmertemperatur abkühlen lassen; gut in Aqua dest. spülen.
Eindecken in Glyzeringelatine (Kaisers-Glyzeringelatine).

Ergebnis: Die Millon-Reaktion ist ein Nachweis auf Tyrosin in Proteinen. Da Tyrosin in fast allen Zellproteinen enthalten ist, kann es als allgemeinen Proteinnachweis gelten. Tyrosinhaltige Proteine zeigen eine Rot-Orange-Färbung.

DMAB oder Aldehyd-Nitrit (ROMEIS, 1968; SPANNHOF, 1967)

Lösung: 5 % p-Dimethylaminobenzaldehyd in konzentrierter HCl
1 % $NaNO_2$ in konzentrierter HCl

Die entparaffinierten Schnitte müssen zuerst zelloidiniert werden. Dazu werden sie nach ihrer Entparaffinierung in Xylol zunächst für 2-3 Minuten in absoluten Alkohol übertragen. Anschließend Einstellen der Schnitte für 3-5 Minuten in eine 0,5 - 1 % Zelloidinlösung in Äther-Alkohol (1:1). Danach läßt man die Lösung abtropfen. Vor einer völligen Trocknung werden die Schnitte kurz in 70 % Alkohol zur Härtung des Zelloidinhäutchens eingestellt und schließlich in Wasser überführt.

Das Zelloidinhäutchen stellt eine semipermeable Membran dar, die verhindert, daß einige wichtige Substanzen der Zelle bei der Färbung in wässerigen Phasen ausgewaschen werden (ROMEIS, 1968; BURCK, 1982).
Die so vorbereiteten Schnitte werden dann kurz (1 Min.) in die p-Dimethylaminobenzaldehyd-Lösung gebracht, anschließend in 1 % $NaNO_2$ Lösung für 1 Minute überführt, kurz in Wasser und danach mit Salzsäurealkohol abgespült. Nach dem Entwässern und Entzelloidinieren werden die Schnitte mit Entellan eingedeckt.
Ergebnis: Die DMAB-Methode wirkt auf tryptophanhaltige Proteine, die sich verschieden stark blau anfärben.

Ninhydrin-Schiff

Lösung: 0,5 % Ninhydrin in absolutem Alkohol

Nach dem Entparaffinieren werden die Schnitte in absolutem Alkohol eingestellt und danach bei 37° C für 5-24 Stunden in einem verschlossenen Gefäß in 0,5 % Ninhydrin. Nach dem Abspülen mit Aqua dest. kommen die Schnitte für 15-60 Minuten in verschlossene und abgedunkelte Gefäße mit Schiff'schem Reagenz. Danach werden sie gründlich in SO_2-Wasser und schließlich nochmals in Aqua dest. abgespült, entwässert und mit Entellan eingedeckt.
Ergebnis: α-Aminosäure-haltige Proteine werden rötlich bis rot angefärbt. Die Ninhydrin-Schiff-Methode gilt auch als allgemeiner Proteinnachweis.

Kohlenhydrate

Der Kohlenhydratnachweis wurde an Paraffinschnitten durchgeführt, die nach dem Entparaffinieren zelloidiniert wurden (s. Proteinnachweis: DMAB). Die Nachweise bezogen sich auf saure Mucopolysaccharide und auf Glycogen.

Saure Mucopolysaccharide

Eisenreaktion nach Hale (BURCK, 1982; SPANNHOF, 1967)

Lösung: Kolloidale Eisenhydroxydlösung
1 % Kaliumferrozyanidlösung in 1 % HCl

Die entparaffinierten Schnitte werden aus dem Wasser für 10 Minuten in die kolloidale Eisenhydroxydlösung gebracht. Nach mehrfachem Spülen in Aqua dest. gelangen sie für 10 Minuten in Kaliumferrozyanidlösung und werden anschließend in Aqua dest. gespült, entwässert und mit Entellan eingedeckt.
Ergebnis: saure Mucopolysaccharide färben sich dunkelblau.

Alzianblau (ROMEIS, 1968; SPANNHOF, 1967)

Lösung: 0,1 % Alzianblau in 3 % Essigsäure

Die vorbereiteten Schnitte werden für 10-30 Minuten in die Alzianblaulösung eingestellt, mit Aqua dest. abgespült, entwässert und eingedeckt.
Ergebnis: Bei Gegenwart saurer Mucopolysaccharide erfolgt eine Blaufärbung des Gewebes.

Metachromatische Färbung mit Toluidinblau (ROMEIS, 1968)

Lösung: 0,01 % Toluidinblau in 30 % Äthanol

Entparaffinierte und gewässerte Schnitte werden bei 18-24° C 15 Minuten in Toluidinblau gefärbt, anschließend in 30 % Äthanol gespült und für 10-15 Minuten in 5 % molybdänsaures Ammonium gestellt, es folgt die Eindeckung in Glyzeringelatine.
Ergebnis: saure Mucopolysaccharide erscheinen blau.

Glycogen

Tri-PAS-Reaktion (BURCK, 1982)

Die PAS-Reaktion nach Hotchkiss und McManus ist ein allgemeiner Nachweis auf Kohlenhydrate. Durch die Erweiterung der sog. Tri-PAS-Reaktion können auch Proteine nachgewiesen werden.

Lösung: 1 % Na-perjodat-Lösung und pro 100 ml Lösung 1 ml 40 % HNO_3

Nach dem Entparaffinieren und Zelloidinieren werden die Schnitte über Nacht in 70 % Alkohol eingestellt. Nach einer weiteren Behandlung in einer absteigenden Alkohlreihe und nach kurzem

Spülen in Aqua dest., werden die Objekte 10 Minuten in die Lösung eingebracht. Es folgen 10 Minuten in Leitungswasser, spülen in Aqua dest., 20-30 Minuten in Schiff'sches Reagenz mit anschließender Spülung in Na-bisulfat. Danach kommen die Schnitte für 20 Minuten in Leitungswasser und werden dann 10 Minuten lang in Mayers-Hämalaun gefärbt. Nach 10-minütigem Wässern in Leitungswasser wird die Tri-PAS-Reaktion durchgeführt. Die gefärbten Schnitte werden in 1 % HCl-Alkohol differenziert, 30 Minuten in Leitungswasser gewaschen und in eine 2 % Orange G in 5 % Phosphorwolframsäure 10 Sekunden eingestellt; anschließend in Aqua dest. gespült, entwässert, entzelloidiniert und mit Entellan eingedeckt.
Ergebnis: Vorhandene Kohlenhydrate färben sich purpur, Proteine gelb.

Lipide

Der Lipidnachweis wurde an luftgetrockneten Gefrierschnitten durchgeführt. Paraffinschnitte lassen sich für diesen Nachweis nicht verwenden, weil Lipide während der notwendigen Entwässerung mit Alkohol herausgelöst wurden.

Osmiumtetraoxyd (CZIHAK, 1964)

Luftgetrocknete Gefrierschnitte werden einige Minuten in einem gut verschlossenen Gefäß Osmiumtetraoxyddämpfen (von Osmiumtetraoxyd-Kristallen) ausgesetzt.
Ergebnis: schwarze Anfärbung lipidhaltiger Substanzen.

Sudan III (BURCK, 1982)

Lösung: Sudan III wird bis zur Sättigung in 50 % Alkohol/Aceton gelöst und vor Gebrauch filtriert.

Die Gefrierschnitte werden kurz in 50 % Alkohol gebracht und dann für wenige Minuten in Sudan III Lösung überführt, da-

nach kurz mit 50 % Alkohol abgewaschen. Eine Hämalaunfärbung kann angeschlossen werden, die durch Bläuen in Wasser abgeschlossen ist. Der Einschluß geschieht in Glyzeringelatine.
Ergebnis: Lipide werden rot gefärbt.

Enzymnachweis

Der Nachweis von Enzymen ist besonders schwierig, da sie äußerst empfindlich sind und die Enzymaktivität nicht allzusehr beeinträchtigt werden darf. Zu diesem Zweck können auch nur frisch in Formol-Kalzium (maxiaml 20 Stunden bei + 4° C) fixierte oder lebende Versuchsobjekte verwendet werden.
Die lebenden Larven wurden entweder als Ganzes oder als luftgetrocknete Gefrierschnitte, die fixierten nur als Gefrierschnitte, in eine Inkubationslösung eingestellt. Eine Paraffineinbettung ist wegen der dabei notwendigen Temperatur (vorzeitiges Zerstören der Enzyme) ausgeschlossen.
Bei einem Enzymnachweis wird das Enzym selbst nicht nachgewiesen sondern sein Reaktionsprodukt. Die Objekte werden in einer bestimmten Lösung inkubiert, die das spezifische Substrat für das nachzuweisende Enzym enthält. Weil die Aktivität verschiedener Enzyme pH-abhängig ist, mußte das Inkubationsgemisch auf den geeigneten pH-Wert eingestellt und gepuffert werden (um den pH-Wert relativ konstant zu halten).

Für den Enzymnachweis wurden zwei Methoden angewandt:
1. Metallsalz-Methode
2. Azofarbstoff-Methode

Die Metallsalz-Methode beruht darauf, daß bei der Spaltung von Estern, Säuren freigesetzt werden, die mit geeigneten Metallionen unlösliche Salze bilden. Diese Salze, welche mit geeigneten Substanzen in Sulfide umgewandelt werden, können dann nachgewiesen werden.

Bei der Azofarbstoff-Methode wird dem entsprechenden Enzym ein künstliches Substrat zugeführt, welches im Aufbau dem natürlichen ähnlich ist, aber zusätzlich Naphtol enthält. Naphtol wird bei einer enzymatischen Hydrolyse freigesetzt, welches mit einer geeigneten Diazoniumverbindung ein unlöslich und zugleich gefärbtes Produkt ergibt.

Alkalische Phosphatasen (SPANNHOF, 1967)

Metallsalzmethode

Lösung: Inkubationsgemisch: 10 Teile 3 % Na-ß-Glyzerinphosphat
10 Teile 2 % Veronal-Natrium
5 Teile Aqua dest.
20 Teile 2 % $CaCl_2$
1 Teil 5 % $MgSO_4$

2 % Kobaltchloridlösung
0,5 - 1,0 % Ammoniumsulfidlösung (gelb)

Die Objekte werden 1/2 bis 4 Stunden bei 37° C inkubiert, anschließend gespült und in die Kobaltchloridlösung für 3-5 Minuten eingestellt. Nach erneutem Abspülen und Überführung in verdünnte Ammoniumsulfidlösung werden die Objekte wieder gründlich gespült und mit Glyzeringelatine eingedeckt. Ergebnis: enzymaktive Strukturen erscheinen braun bis schwarz.

Azofarbstoffmethode

Lösung: Inkubationsgemisch: 0,1 M Veronal-HCl-Puffer pH 9,4
0,1 % Echtblausalz B
0,1 % Na-α-Naphtylphosphat

Die Objekte werden bei Zimmertemperatur 1-20 Minuten inkubiert, danach abgespült und mit Glyzeringelatine eingedeckt.

Ergebnis: enzymatische Strukturen erscheinen dunkelblau bis schwarz.

Saure Phosphatasen (SPANNHOF, 1967)

Metallsalzmethode

Lösung: Inkubationsgemisch: 50 Teile 0,05 M Azetatpuffer pH 5,3
5 Teile 3 % Natrium-ß- Glyzerophosphat
pro ml Lösung 1,45 mg Bleiaztat

2 % Essigsäure
0,5 - 1,0 % Ammoniumsulfidlösung

Die Objekte werden 1/2 bis 16 Stunden bei 37° C inkubiert, in Aqua dest. gewaschen, in 2 % Essigsäure (0,5-2 Minuten) gespült, in Aqua dest. gewaschen, für 1-2 Minuten in Ammoniumsulfidlösung eingebracht, erneut gründlich mit Aqua dest. abgespült und mit Glyzeringelatine eingedeckt.
Ergebnis: enzymatische Strukturen erscheinen schwarz.

Azofarbstoffmethode

Lösung: Inkubationsgemisch: 13 Teile 0,154 % α-Naphtylphosphat
5 Teile Veronal-Azetatpuffer Stammlösung
1,6 Teile hexozotiertes Fuchsin mit 1 N NaOH auf pH 6,0-6,5 einstellen

Die Objekte werden bei Zimmertemperatur 5-30 Minuten inkubiert, anschließend mit Aqua dest. gewaschen und in Glyzeringelatine eingedeckt.

Ergebnis: rötlich braune Färbung enzymatischer Strukturen.

Unspezifische Esterasen (SPANNHOF, 1967)

Azofarbstoffmethode

Lösung: Inkubationsgemisch: 20 Teile 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4
0,5 Teile 1 % α-Naphtalazetat (in Azeton)
pro ml Lösung 1 mg Echtblausalz B

20 Teile Veronal-HCl-Puffer pH 8,2-8,8
0,5 Teile 1 % α-Naphtylazetat (in Azeton)
pro ml Lösung 0,5 mg Echtblausalz B

20 Teile 0,15 M NaH_2PO_4
0,5 Teile 1 % α-Naphtylazetat (in Azeton)
1,6 Teile hexozotiertes Fuchsin
pH mit 0,15 M NaH_2PO_4

Die Objekte werden bei Zimmertemperatur 1-15 Minuten inkubiert, in Aqua dest. gespült und mit Glyzeringelatine eingedeckt.
Ergebnis: je nach pH erscheinen enzymatische Strukturen rot bis blauschwarz.

Ein weiterer Nachweis für unspezifische Esterasen soll hier nur der Vollständigkeit halber aufgeführt werden, weil dieser Versuch bereits im Ansatz, d. h. bei der Vorbereitung der entsprechenden Objekte, scheiterte.
Dieser Versuch beruht auf einen Nachweis unspezifischer Esterasen und Proteinasen der Speicheldrüsen und des Darmes von Hypoderma bovis, mit Hilfe von elektrophoretischen Methoden, die von BONGERS und NOGGE (1970) durchgeführt wur-

den.
Zu diesem Zweck mußten Darm und Speicheldrüsen aus den betreffenden Larven von D. rapae isoliert werden. Aufgrund der geringen Größe der Organe und der vielfachen Gewundenheit der Speicheldrüse bei der L_4, war eine Präparation mit den mir zur Verfügung stehenden Mitteln nur beim Darm der L_4 möglich. Um aber enzymatische Aktivität im Darmepithel zu untersuchen, mußte eine saubere Trennung von Darmwand und Darminhalt geschehen, was unter den gegebenen Umständen nicht möglich war.

8.3 Ergebnisse

Proteine

Die Quecksilberbromphenolblaufärbung zeigte bei schwacher Vergrößerung eine allgemeine bläulich-graue Färbung aller Organe, wobei nur die Speicheldrüsen durch eine schmutzig grün-graue Anfärbung hervortraten, mit rötlich gefärbten Zellkernen. Bei genauer Betrachtung mit einer stärkeren Vergrößerung fällt auf, daß eine intensive Blaufärbung nur das Körperepithel aufweist. Das Darmepithel erscheint mehr gräulich und bei der L_1 und L_2 verstärkt grünlich-grau. Darminhalt und Speicheldrüseninhalt (wenn vorhanden) werden gar nicht oder nur schwach angefärbt.(Abb. 17)

Die FCF-Färbung zeigt eine gleichmäßig intensive Grünfärbung des gesamten Objektes. Aus diesem Grunde wurde der Versuch mit verkürzten Zeiten durchgeführt, wobei selbst bei kürzesten Versuchszeiten (15 Minuten) noch das gleiche Ergebnis erzielt wurde.
Bezogen auf den Proteinnachweis zeigte die Tri-PAS-Färbung ein negatives Resultat, auch bei einer doppelten Zeitverlängerung der Versuchsdurchführung.
Der Ninhydrinnachweis auf Proteine ergab eine leicht rötliche Anfärbung des Körper- und Darmepithels, wobei die Spei-

cheldrüsen eine intensive Rotfärbung aufweisen. Auch hierbei blieb das Ergebnis trotz unterschiedlicher Färbezeiten gleich (Abb. 18).
Hierbei durchgeführte Kontrollversuche, die ohne Ninhydrinbehandlung stattfanden, ergaben ein negatives Resultat, also keinerlei Anfärbungen.

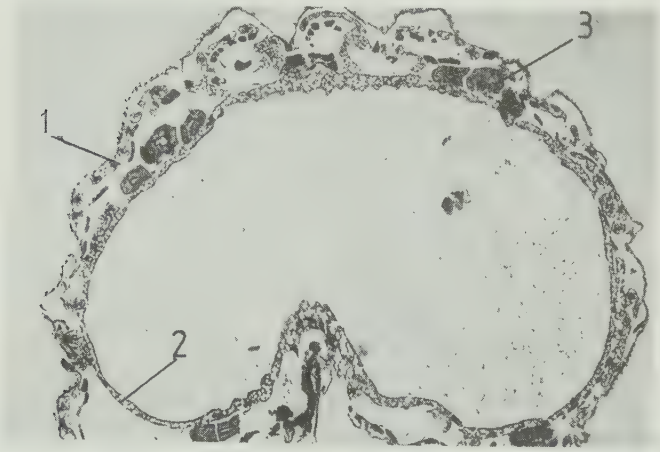

Abb. 17
Querschnitt durch eine L_4-Larve (Quecksilberbromphenolblau; 40-fache Vergrößerung)
1. Körperepithel, 2. Darmepithel, 3. Speicheldrüsen

Abb. 18
Querschnitt durch eine L_4-Larve (Ninhydrin-Schiff; 30-fache Vergrößerung) ▼ Speicheldrüsen

Die speziell auf tyrosinhaltige Proteine durchgeführte Millon-Reaktion ergab ein negatives Resultat. Ebenso zeigte die DMAB-Methode zunächst keine Hinweise auf tryptophanhaltige Proteine. Aufgrund der in der Literatur angegebenen kurzen Färbezeit von 1 Minute wurde der zuletzt genannte Versuch mit erhöhten Zeiten wiederholt. Auch hierbei blieb das Ergebnis scheinbar gleich. Allerdings zeigte sich bei der L_4 eine schwach hell-bläuliche Färbung des Speicheldrüseninhaltes.
Die bei der Proteinfärbung erzielten Ergebnisse beziehen sich, wenn nicht besonders erwähnt, auf alle Larvenstadien.

Kohlenhydrate

Bei der Bestimmung des Kohlenhydratanteils der verschiedenen Organe, wurden zunächst Nachweise auf saure Mucopolysaccharide durchgeführt. Dabei konnte mit der Hale-Reaktion (Eisenbindungsvermögen) in allen Larvenstadien eine bläuliche Anfärbung aller Organe erzielt werden, wobei eine intensive Blaufärbung der Speicheldrüsen, der inneren Darmwand und des Darminhaltes auffällt (Abb. 19).

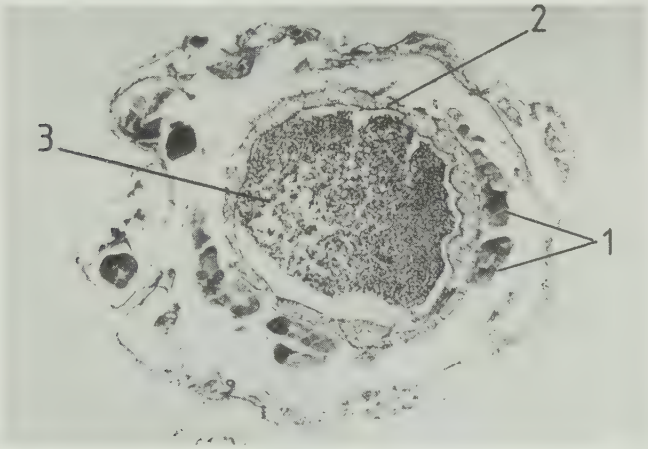

Abb. 19
Querschnitt durch eine L_4-Larve (Hale; 40-fache Vergrößerung)
1 = Speicheldrüsen, 2 = innere Darmwand, 3 = Darminhalt

Eine besonders kräftige Anfärbung der Speicheldrüse konnte auch mit der Toluidinblaufärbung erreicht werden. Sie ist besonders kräftig bei älteren Larvenstadien (L_3 und L_4) (Abb. 20).

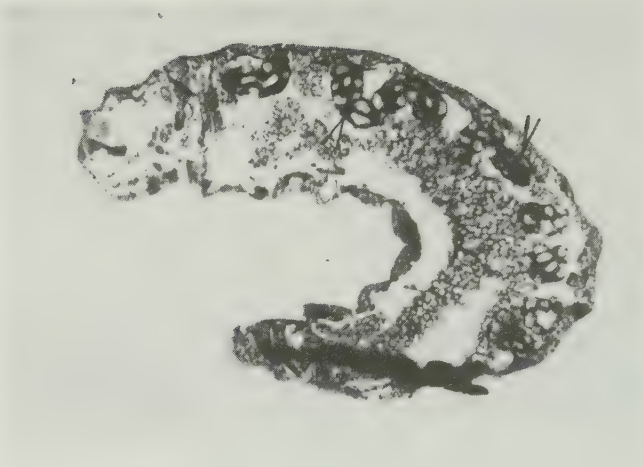

Abb. 20
Längsschnitt durch eine L_3-Larve (Toluidinblau; 40-fache Vergrößerung) ▼ Speicheldrüsen

Die Alcianblaufärbung dagegen brachte bis auf vereinzelte stellenweise Anfärbungen des Körper- und Darmepithels keine auswertbaren Resultate.

Glycogen

Die Tri-PAS-Methode zeigte bei allen vier Larvenstadien ein positives Ergebnis in Bezug auf den Darminhalt, während Glycogen als Bestandteil des Sekretes im Lumen der Speicheldrüsen nur bei älteren Larvenstadien (L_3 und L_4) nachzuweisen war (Abb. 21, 22).

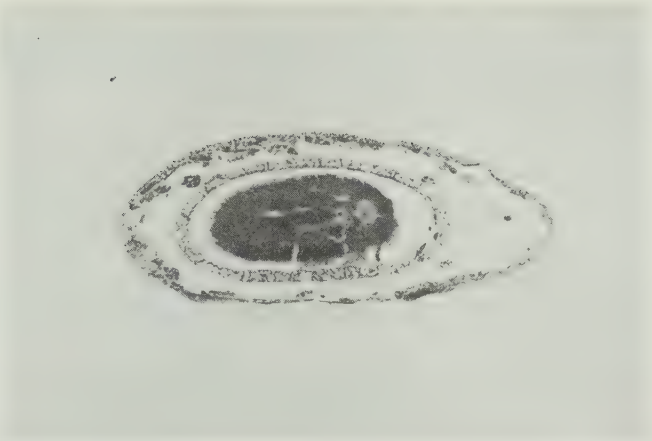

Abb. 21
Querschnitt durch eine L_2-Larve (Tri-PAS; 40-fache Vergrößerung)

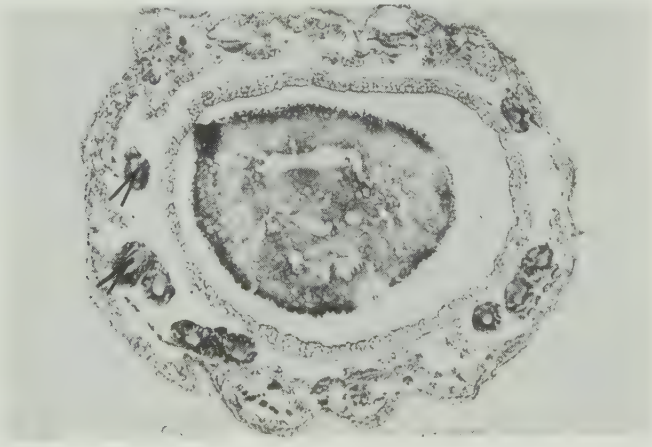

Abb. 22
Querschnitt durch eine L_4-Larve (Tri-PAS; 40-fache Vergrößerung) ▼ Speicheldrüseninhalt

Lipide

Die als Vorversuche dienende Osmiumtetraoxidfixierung war positiv. Danach sind die Zellen des Darmepithels mit Fettvakuolen angefüllt.

Zur genaueren Untersuchung wurde die Sudan-III-Färbung durchgeführt. Sie bestätigte die Ergebnisse der Vorversuche. Fortschreitend von der L_1 zur L_4 werden vermehrte Fette in die Darmzellen eingelagert. Im L_3 und besonders im L_4-Stadium werden dann zusätzliche Fettdepots im Körperepithel eingelagert (Abb. 23).

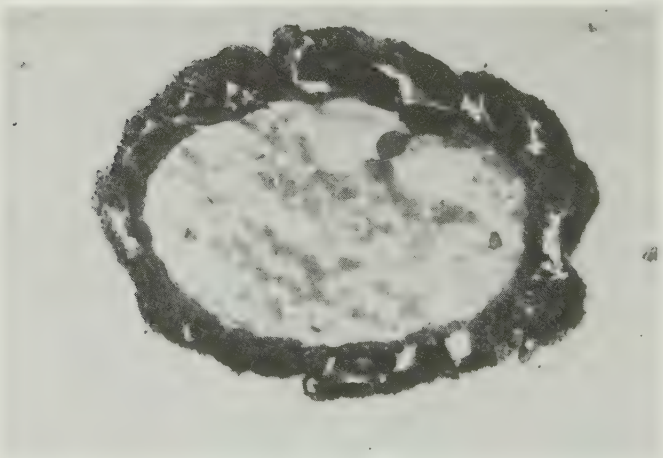

Abb. 23
Querschnitt einer L_4-Larve (Sudan-III; 40-fache Vergrößerung)

Enzyme

Als besonders schwierig erwies sich der Nachweis von Enzymen. Wie aus dem Kapitel "Material und Methode" bereits hervorgeht, bezogen sich diese Versuche auf Phosphatasen und unspezifische Esterasen.
Während alle Esteraseversuche ein negatives Ergebnis erbrachten, konnte bei den Phosphatasen eine Anfärbung bestimmter Organe erzielt werden. Hierbei mußten allerdings die Inkubationszeiten teilweise verlängert werden. Vorversuche ergaben, daß eine Inkubationsdauer von 12 Stunden reproduzierbare Ergebnisse erbrachte.
Der Nachweis von alkalische Phosphatasen ergab eine dunkle Anfärbung von Speicheldrüse, innerer Darmwand und teilweise des Darminhaltes (Abb. 24). Hierbei zeigten Kontrollversuche ein negatives Ergebnis.

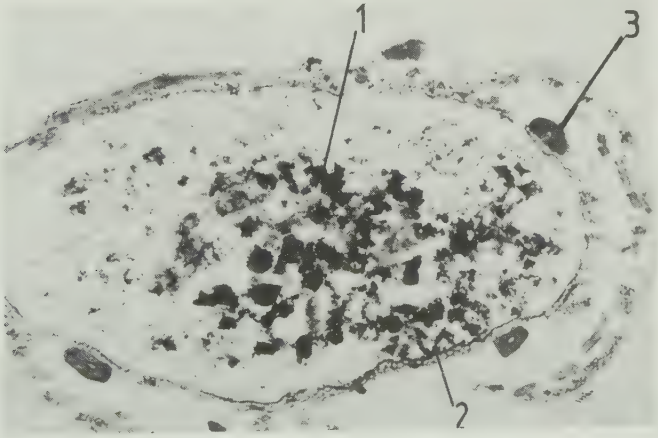

Abb. 24
Querschnitt einer L_4-Larve (alkalische Phosphatasen; 40-fache Vergrößerung)
1 = Darminhalt, 2 = innere Darmwand, 3 = Speicheldrüse

nachzuweisende Stoffklasse	Methode	Körperepithel L_1	L_2	L_3	L_4	Darmepithel L_1	L_2	L_3	L_4	Darminhalt L_1	L_2	L_3	L_4
Proteine	Quecksilberbrom-phenolblau	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+-	+-	+-	+-
	FCF	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Tri-PAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ninhydrin-Schiff	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
(Tyrosin)	Millon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Tryptophan)	DMAB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kohlenhydrate													
saure Mucopoly-saccharide	Hale	+	+	+	+	+ (innere Darmwand)	+	+	+	++	++	++	++
	Alzianblau	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-
	Toluidinblau	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycogen	Tri-PAS	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++
Lipide	Osmiumtetra-oxyd	(+)	(+)	++	++	+	++	+++	+++	+(-) (teilweise)	+(-)	+(-)	+(-)
	Sudan III	(+)	(+)	++	++	+	++	+++	+++	+(-) (teilweise)	+(-)	+(-)	+(-)
Enzyme													
alkalische Phosphatasen	Metallsalz	-	-	-	-	+ (innere Darmwand)	+	+	+	+(-) (teilweise)	+(-)	+(-)	+(-)
	Azofarbstoff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
saure Phosphatasen	Metallsalz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Azofarbstoff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
unspez. Esterasen	Azofarbstoff (3 verschiedene)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

nachzuweisende Stoffklasse	Methode	Speicheldrüsen				Speicheldrüsen-inhalt				Malpighische Gefäße			
		L_1	L_2	L_3	L_4	L_1	L_2	L_3	L_4	L_1	L_2	L_3	L_4
Proteine	Quecksilberbrom-phenolblau	–	–	–	–	–(+)	–(+)	–(+)	–(+)	–	–	–	–
	FCF	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Tri-PAS	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Ninhydrin-Schiff	++	++	++	++	–	–	–	–	(+)	(+)	(+)	(+)
(Tyrosin)	Millon	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
(Tryptophan)	DMAB	–	–	–	–	–	–	–(+)	+	–	–	–	–
Kohlenhydrate													
saure Mucopoly-saccharide	Hale	++	++	++	++	–	–	–	–	+	+	+	+
	Alzianblau	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Toluidinblau	+	+	++	++	–	–	–	–	(+)	(+)	(+)	(+)
Glycogen	Tri-PAS	–	–	–	–	–	–	(+)	+	–	–	–	–
Lipide	Osmiumtetra-oxyd	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Sudan III	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Enzyme													
alkalische Phos-phatasen	Metallsalz	+	+	++	++	–	–	–	–	–	–	–	–
	Azofarbstoff	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
saure Phospha-tasen	Metallsalz	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Azofarbstoff	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
unspez. Este-rasen	Azofarbstoff (3 verschiedene)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

8.4 Diskussion

Die Larven von Diaeretiella rapae unterliegen während ihrer Entwicklung einigen morphologischen und histologischen Veränderungen (s. Morphologie und Histologie). Besonders auffällig sind dabei anatomische Veränderungen, Vergrößerung des Darms mit vermehrter Vakuolenbildung und die Verlängerung der damit verbundenen Windungen der Speicheldrüsen.
Welche organischen Substanzen diese Organe enthalten und welchen Veränderungen diese während der Larvalentwicklung unterliegen, wird im histochemischen Teil dieser Arbeit näher ausgeführt.
Das die Mehrzahl der angewandten Proteinnachweise einen positiven Befund ergaben, sind angesichts der Tatsache, daß Proteine Grundbausteine aller Zellen darstellen, nicht überraschend. Der Anteil der Proteine ist besonders hoch in den Speicheldrüsen und im Körperepithel. Bezüglich der Präsenz von Fetten in den Larven von D. rapae ist interessant, daß in keinem Larvenstadium ein spezieller Fettkörper, wie er typisch für die überwiegende Mehrzahl der Insekten ist, vorhanden ist. Vielmehr übernehmen die Darmzellen des Mitteldarmes diese Funktion. Mit zunehmendem Alter der Larven wird vermehrt Fett gleichmäßig in diese Zellen eingelagert. Im L_3- und L_4-Stadium wird dann noch zusätzlich das Körperepithel als Fettdepot verwendet.
Neben Proteinen sind saure Mucopolysacchraide in fast allen Organen nachzuweisen. Einen besonders hohen Anteil dieser Substanz enthalten offensichtlich die Speicheldrüsen und einige Bereiche des Darmepithels. Die Menge dieser Substanz scheint sich während der Larvenentwicklung nicht zu erhöhen. Ausgenommen davon sind aber die Speicheldrüsen. In diesen Organen sind im L_3- und L_4-Stadium mehr saure Mucopolysaccharide nachzuweisen.
Überraschend ist der Befund, daß kein Glycogen in den Organen nachgewiesen werden konnte, sondern nur als Bestandteil des

Darminhaltes und bei älteren Larvenstadien als Bestandteil des Sekretes der Speicheldrüsen.

Wie im Kapitel "Nahrungsaufnahme über das Körperepithel" bereits ausgeführt, erfolgt während der gesamten Larvalentwicklung die Aufnahme von Nahrungsstoffen oral. Der Darm ist nach dem Schlupf der L_1 voll funktionsfähig und man kann in allen Entwicklungsstadien Darminhaltsstoffe erkennen. Im L_1-Stadium ist der Darm vorwiegend mit Leibeshöhlenflüssigkeit (Haemolymphe) der Laus gefüllt; es sind aber auch feste Bestandteile zu erkennen, die eindeutig Teile von Blattlausembryonen darstellen. Auf histologischen Schnitten konnten nämlich Teile der Facettenaugen (gut erkennbar am Pigment Melanin) von Embryonen erkannt werden. Die Aufnahme solcher Nahrung ist natürlich nur dann möglich, wenn die parasitierte Laus ein entsprechendes Alter zur Zeit der Parasitierung aufweist, d. h. Embryonen enthält. Weiterhin muß die Larve, die solche Art Nahrung aufnimmt, kräftige Mandibeln besitzen, mit denen sie Gewebeteile aus den Embryonen herausreißen kann. Über solche Mandibeln verfügt die L_1-Larve von D. rapae. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung, daß die L_1-Larven offensichtlich gezielt nur die Embryonen und die Fettkörper als feste Nahrungsquelle nützen. Die in der Leibeshöhle der Laus vorhandenen Mycetocyten, die als vielzelliger Komplex um den Mitteldarm angeordnet sind, werden ganz offensichtlich nicht angegriffen. Jedenfalls konnten auf den zahlreichen histologischen Schnitten nie Verletzungen an den Mycetocyten erkannt werden. Die Schonung dieser Organe liegt auch ganz im Interesse des Parasitoiden. Die Mycetocyten enthalten für die Blattlaus lebensnotwendige Symbionten, die erst durch die Bereitstellung bestimmter, für die Blattlaus essentiellen Stoffe - Vitamine, Spurenelemente - das Leben an einer Mangeldiät (Inhalt pflanzlicher Leitbündel) ermöglichen. Eine vorzeitige Schädigung der Symbionten würde die Blattlaus schwächen, was nicht ohne Folgen für eine normale Entwicklung des Parasitoiden in einem solchen Wirt wäre. Es kann vorerst

keine Aussage darüber gemacht werden, wie die Parasitoidenlarve embryonales und Fettgewebe einerseits, von Mycetocytengewebe andererseits unterscheiden kann.
Das L_2-Stadium ist offensichtlich nur zur Aufnahme flüssiger Nahrung befähigt, denn mit ihren (wenn überhaupt vorhanden) sicherlich weichhäutigen Mandibeln könnten die Larven wohl kaum feste Bestandteile aus einem Gewebeverband herausreißen; diese Befunde gelten im wesentlichen auch für die L_3-Larve. Die L_4 besitzt dann wieder kräftige Mandibeln, mit denen sie alle Organe und Gewebe zerstören, d. h. zerkleinern kann, um sie anschließend über den kräftig entwickelten Pharynx in den Mitteldarm abzuschlucken.

Daß bei der Verdauung Enzyme eine wichtige Rolle spielen, ist auch ohne besonderen Nachweis sicher, denn keine chemische Reaktion oder kein Stoffwechsel im lebenden Material kann ohne Enzyme stattfinden.
Aus der Fülle der Enzyme wurden zwei Gruppen ausgewählt und ihre Präsenz bzw. Nichtpräsenz im Darm der D. rapae-Larven überprüft. Es handelt sich dabei um Phosphatasen und Esterasen. Da die Enzyme mit histochemischen Methoden nachgewiesen wurden, konnten sie nur qualitativ erfaßt werden.

Die Frage, inwieweit die in allen Larvenstadien vorhandenen Speicheldrüsen am Aufschluß der Nahrung beteiligt sind, ist vorerst nicht zu beantworten. Daß die Speicheldrüsen im L_4-Stadium das Material für den Kokon liefern, den sich die ausgewachsene L_4-Larve in der toten Blattlaus spinnt, ist sicher. Es stellt sich aber die Frage, ob das bereits in den Speicheldrüsen des L_1-Stadiums vorhandene Sekret identisch ist mit dem Sekret der L_4-Larve, oder möglicherweise diese Inhaltsstoffe Enzyme darstellen, die an der Verdauung beteiligt sind, wobei als Bestandteil dieses Sekrets im 3. und 4. Larvenstadium Glycogen und im 4. Larvenstadium Tryptophan nachgewiesen wurden. Die Speicheldrüsen selbst bestehen aus Proteinen als Grundsubstanz und sauren Mucopolysacchariden, auch alkalische

Phosphatasen lassen sich in ihrer Wirkung bei allen Larvenstadien nachweisen.
Auffällig ist auch das enorme Längenwachstum der Speicheldrüsen während der Larvalentwicklung. Aus allen diesen Ergebnissen läßt sich der Schluß ziehen, daß die Speicheldrüsen letztendlich nur als Spinndrüsen fungieren und auch nur zu diesem Zweck angelegt werden.

8.5 Zusammenfassung

Diaeretiella rapae ist ein Parasitoid von bestimmten Blattläusen. Sein Operationsgebiet scheint sich dabei auf Kohlfelder zu beschränken. Dementsprechend ist sein Hauptwirt Brevicoryne brassicae. Aber auch andere Blattläuse, die sich auf Kohlpflanzen befinden (in diesem Falle Myzus persicae) werden als "Notwirt" in Abwesenheit von B. brassicae benutzt, andere Läuse dagegen finden kein oder nur geringes Interesse.
Der Parasitoid belegt in der Mehrzahl größere und ältere Larven- bzw. Nymphenstadien seines Wirtes, aber auch kleinere Larven und geflügelte adulte Blattläuse können parasitiert werden. Ersteres scheint wiederherum nur eine "Notlösung" zu sein (s. auch "Superparasitismus"), letzteres ist aufgrund der viel größeren Aktivität der Laus mehr oder weniger ein Zufall und hat sicherlich auch den biologischen Sinn eines passiven Transportes von Parasitoiden zu weiter entfernten Läusekolonien.
Die Größe des Wirtes, und die damit zur Verfügung stehende Nahrungsmenge, hat einen Einfluß auf das Größenwachstum der Parasitoidenlarven und der schlüpfenden adulten Schlupfwespen (WILBERT, 1967).
Der Wirt wird in der Regel total ausgenutzt bzw. leergefressen, oder in einigen Fällen kann man während der Verpuppung der L_4 von D. rapae im Wirt noch übriggebliebene Bestandteile der Laus (in zwei Fällen fand ich sogar noch intakte Läuseembryonen) erkennen.
Aufgrund der Parasitierung kommt es im Wirt mit der Entwick-

lung der L_1 des Parasitoiden zur Bildung von Riesenzellen, sogenannte Teratocyten (KILGER, 1980), die bis zum L_3-Stadium und manchmal sogar bis zum L_4-Stadium in verschwindender Zahl zu beobachten sind.
Die ersten drei Larvenstadien ernähren sich hauptsächlich von "unwichtigen" Bestandteilen (Haemolymphe) des Wirtes, während die L_4 alle Organe angreift. Auch die Blattlausembryonen werden hauptsächlich erst im letzten Larvenstadium des Parasitoiden gefressen, obwohl sie als "unwichtige" Bestandteile des Wirtes eine ideale Futterquelle für alle Larvenstadien dienen könnten. Die ersten Larvenstadien scheinen aber nur flüssige bzw. breiige Nahrung aufzunehmen, während ab der L_4 auch feste Bestandteile der Laus aufgenommen werden. Dementsprechend ist der Darminhalt der L_1 - L_3 breiig und fast ohne feste Bestandteile, im Gegensatz zur L_4. Die L_1-Larve stellt hierbei eine Ausnahme dar, denn mit Hilfe ihrer langen Mandibeln ist sie in der Lage, auch feste Bestandteile aus den Läuseembryonen zu reißen und aufzunehmen. Die Nahrungsaufnahme geschieht bei allen Larvenstadien hauptsächlich oral. Eine Nahrungsaufnahme über das Körperepithel ist nicht ganz ausgeschlossen, spielt aber (wenn überhaupt) nur eine untergeordnete Rolle. Der Hauptbestandteil der aufgenommenen Nahrung läßt sich bei allen vier Larvenstadien als Kohlenhydrate im Darminhalt feststellen. Mit zunehmender Entwicklung der Larve kommt es zu einer Anhäufung von Lipiden, die hauptsächlich im Darm- (in speziell gebildeten Vakuolen) und später auch im Körperepithel nachgewiesen werden können. Einen eigentlichen Fettkörper besitzen D. rapae-Larven nicht. An der Verdauung sind bestimmte Enzyme im Darm und Darmepithel aller vier Larvenstadien beteiligt, von denen allerdings nur alkalische Phosphatasen nachgewiesen werden konnten. Der Hauptbestandteil der verschiedenen Organe der Larven sind Proteine, wobei bei der L_4 auch enzymatische Strukturen bei den Speicheldrüsen erkannt wurden.

Die Speicheldrüsen selbst, die der L_4 als Spinndrüsen für den

Kokon dienen, zeigen während der Larvalentwicklung außer einem ständigen Wachstum keine großen Veränderungen. Ein Speicheldrüsensekret ist in allen Larvenstadien vorhanden. Als Bestandteile dieses Sekrets wurden im L_4-Stadium Tryptophan, und im L_3- und L_4-Stadium Glycogen nachgewiesen.

Bei der Verdauung selbst scheint die Speicheldrüse eine sehr nebensächliche Funktion zu haben. Die Bildung von Sekret verbunden mit dem enormen Wachstum der Speicheldrüsen dienen letztendlich dem Zweck genügend Material zum Spinnen der Kokons bereit zu halten. Dafür spricht auch die relativ kurze Entwicklungszeit vom Ei bis zur Puppe.

Die Mandibeln haben zumindest während der ersten Larvenstadien keine Funktion im Sinne der Nahrungsaufnahme, wobei die Mandibeln der L_1 wiederherum die Ausnahme darstellen. Die Mandibeln der übrigen drei Larvenstadien scheinen dagegen eine Entwicklung darzustellen, die im L_4-Stadium vollendet ist. Im L_4-Stadium selbst können sie als Werkzeuge zur Nahrungsaufnahme angesehen werden, wobei sie sicherlich aber auch noch die Funktion haben, die leergefressene Blattlaus an der Bauchseite aufzuschlitzen, um die tote Blattlaushülle an der Unterlage festzukleben.

Literaturverzeichnis

AKINLOSOTU, TA. 1977 Effect of temperature on some biological activities of the cabbage aphid Brevicoryne brassicae (Homoptera: Aphididae) and its primary parasite Diaeretiella rapae (Hymenoptera: Aphididae). Occasional Publication, Nigerian Society for Plant Protection: Nigerian Society for Plant Protection: NSPP 7th Annual Conference Proceedings. 41

ARNOLD, M.-L. 1978 Haltung und Aufzucht von Aphiden und künstlichen Diäten und Erzeugung ihrer sexuellen Morphen im Hinblick auf die Anwendung einer genetischen Schädlingsbekämpfung in Form der Sterile-Male-Technik. Dissertation. Bonn, 120 pp.

ARTHUR, D. R. 1944 Aphidius granarius Marsh. in relation to its control of Myzus kaltenbachi Schout.
Bulletin of Entomological Research 35, 257-270.

ATAEVA, M. 1961 Contribution to fauna of the family Aphidiidae, parasites of aphids in Tadzhikistan.
Izv. Akad. Nauk tadzhik, SSR 4, 57-66

1963 Schlupfwespen - Aphidiidae - als Parasiten der Läuse auf der Baum-

wollstaude und Luzerne in der Gussar-Niederung
Izv. Akad. Nauk tadzhik, SSR 1, 107-109

BAUER, H. CHR, HOFER, R. KNAPP, W. MOSER, H. 1974 Zoologische Experimente dtv. 3111

BÖRNER, C. 1952 Die Blattläuse Mitteleuropas. Mitteilungen d. Thür. Botan. Gesellschaft, 4, 3 Weimar

BONGERS, J NOGGE, G. 1970 Unspezifische Esterasen und Proteinasen der Speicheldrüsen und des Darmes von Hypoderma Bovis J. Insect Physiol., 16, 2127-2136

BONNEMAISON, L. 1951 Contribution à l'étude des facteurs provoquant l'apparition des formes ailées et sexuées chez les Aphidinae.
Thèse Fac. Sci. Univ. de Paris.
Ann. Epiphyties serie C, 1-380

BRAGG, D. 1974 Ecological and behavioural studies of Phaeogenes cynarae: ecology; host specifity; search and oviposition and avoidance of superparasitism.
Annals of the Entomological Research 35, 257-270

BROUSSAL, G. 1961 Cycle évolutif d'un parasite de pucerons. Aphidius brassicae

(Hyménoptère Aphidiidae).
C. r. hebd. Seanc. Acad. Sci. Paris, 252, 1845-1847

1963 Le superparasitisme et L'elimination des Larves surnuméraires chez Aphidius brassicae (Hyménoptère Aphidiidae).
C. R. Ac. Sci. Paris, 256, 1834-1837

1966 Étude d'un complexe parasitaire: Les hyménoptères parasites et hyperparasites de Brevocoryne brassicae (Homoptera Aphididae)
Thèse Fa. Sci. Reims 3, 1-187

BURCK, H. 1982 Histologische Technik
Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York.

CAMPBELL, A.
FRAZER, BD.
GILBERT, N.
GUTIERREZ, AP.
MACKAUER, M. 1974 Temperature requirements of some aphids and their parasites.
Journal of Applied Ecology; 11; 2; 431-438

CHINERY, M. 1976 Insekten Mitteleuropas.
Paul Parey, Hamburg und Berlin

CHUA, TH. 1977 Population studies of Brevicoryne brassicae (L.), its parasites and hyperparasites in England.
Researches on Population Ecology: 19; 1; 125-139

CHUA, TH. 1978 Pattern and influencing factors of emergence in Diaeretiella rapae and its parasites. Zeitschrift für Angewandte Entomologie; 85; 4; 436-442

CLOUTIER, C. 1984 The effect of host density on egg distribution by the solitary parasitoid Aphidius nigripes (Hymenoptera: Aphidiidae) Can. Ent. 116, 805-811

COUCHMAN, J. R. 1977 Morphology of The Larval Stages of Diaeretiella rapae (M'Intosh) (Hymenoptera: Aphidiidae). Int. J. Insect Morphol. And Embryol. 6 (3/4), 127-136

1979 Effect of the Parasitoid Diaeretiella rapae on the feeding rate of its host Brevicoryne brassicae. Ent. exp. and appl. 25, 9-15

COUNCIL ON ENVIRONMENTAL QUALITY 1980 Global 2000 Verlag Zweitausendeins

CZIHAK, C. 1964 Arbeitsmethoden der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

DADD, R. H. KRIEGER, D. L. 1967 Continous rearing of aphids of the Aphis fabae complex on sterile synthetic diet. J. Economic Entomol. 60, 1512-1514

DADD, R. H. 1966 Permanent culture of an aphid on a

MITTLER, T. E. totally synthetic diet. Experientia 22, 832-833

DAIBER, CC. 1971 Cabbage aphids in South Africa: their parasites, predators and didease. Phytophylactica; 3, 4; 137-146

DIXON, A. F. G. 1977 Aphid Ecology: Life cycles, Polymorphism, and population regulation Ann. Rev. Ecol. Syst. 8, 329-53

DOGIEL, V. A. 1963 Allgemeine Parasitologie VEB Jena

EMDEN, van, H. F. BASHFORD, M. A. 1971 The performance of Brevicoryne brassicae and Myzus persicae in relation to plant age and leaf amino acids. Entomol. Exp. Appl. 14, 349-60

FISHER, R. C. 1971 Aspects of the physiology of endoparasitic Hymenoptera. Biol. Rev. 46, 243-278

FOX, P. M. THURSTON, R. PASS, B. C. 1967 Notes of Myzus persicae (Homoptera: Aphididae) as a host of Aphidius smithi (Hymenoptera: Braconidae) Ann. ent. Soc. Am. 60, 708-709

FRANZ, J. M. KRIEG, A. 1976 Biologische Schädlingsbekämpfung Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

GARDNER, S. M. 1984 Limitation of superparasitism by

WARD, S. A.
DIXON, A. F. G.
Aphidius rhopalosiphi: a consequence of aphid defensive behaviour
Ecological Entomology 9, 149-155

GRANDI, G. 1952
Introduzione allo studio dell' entomologia, Vol. II
Edizione Agricole, Bologna

GROSS, H. R. Jr. 1975
LEWIS, W. J.
JONES, R. L.
NORDLUND, D. A.
Kairomones and their use for management of entomophagous insects: III. Stimulation of Trichogramma achaeae, T. pretiosum, and Microplitis croceips with hostseeking stimuli at time of release to improve their efficiency
J. Chem. Ecol. 1, 431-438

HABIB, R. 1973
Natural enemies and their role in limitation and control of Brevicoryne brassicae L. in Pakistan.
Technical Bulletin of the Commonwealth Institute of Biological Control, 16, 69-78

HAFEZ, M. 1961
Seasonal fluctuations of population density of the cabbage aphid, Brevicoryne brassicae L. in the Netherlands, and the role of its parasite, Aphidius (Diaeretiella) rapae (CURTIS).
T. Pl.-Ziekten 67, 445-548

HART, J. t'
JONGE, J. de
COLLE, C. 1978
Host selection, host discrimination and functional response of Aphidius matricariae Haliday (Hymenoptera:

DIECKE, M.
LENTEREN, J. C. van
RAMAKERS, P.
Braconidae), a parasite of the green peach aphid Myzus persicae
Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent, 43, 2; 441-453

HEINZE, K. 1960-1961 Systematik der mitteleuropäischen Myzinae.
Neitr. Ent. 10, 774-842; 11, 24-96

HERAKLY, FA. 1970 Seasonal abundance and neutral enemies of the cabbage aphid, Brevicoryne brassicae (L.), in U. A. R.
Agricultural Research Review, 48, 1; 119-122

HERGER, P.
LAMPEL, G. 1975 Zuchtversuche mit mono- bis polyphagen Röhrenblattlaus-Arten auf künstlichem Nährmedium (Homoptera: Aphidina: Aphididae)
Ent. Germ. 1, 258-278

HOFSVANG, T.
HAGVAR, E. B. 1983 Superparasitism and host discrimination by Ephedrus cerasicola (Hym.: Aphididae), an aphidiid parasitoid of Myzus persicae (Hom.: Aphididae)
Entomophaga 28, 4; 379-386

HUGHES, R. D. 1963 Population dynamice of the cabbage aphid, Brevicoryne brassicae (L.)
J. Anim. Ecol. 32, 393-424

JOHNSON, C. G. 1969 Migration and Dispersal of Insects by flight.
London: Methuen 763 pp.

KAESTNER, A. 1973 Lehrbuch der speziellen Zoologie. Band I Wirbellose, 3. Teil: Insecta B. spezieller Teil Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

KARL, E. GIERSEMEHL, I. 1974 Untersuchungen zum Saugverhalten verschiedener Aphidenarten an mit ^{32}p markierten Wirts- und Nichtwirtspflanzen Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz Berlin 10, 1; 53-60

KARLSON, P. 1974 Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

KILGER, I. 1980 Histologische und histochemische Untersuchungen an Teratocyten von Diaeretiella rapae M'Intosh (Hym.: Aphidiinae) in Brevicoryne brassicae L. (Homoptera: Aphidiidae) Staatsex. Math.-Naturw. Fak., Universität Bonn

KLINGAUF, F, 1966 Abwehr- und Meidereaktionen von Blattläausen (Aphididae) bei Bedrohung durch Räuber und Parasiten Diss. Math.-Naturw. Fak., Univ. Bonn

KLOFT, W.-J. 1978 Ökologie der Tiere UTB, 729 Stuttgart

KLOFT, W.-J. ESSER, W.-J. 1978 Beobachtungen bei der Nahrungsaufnahme von Aphiden und deren Bedeutung für die Anwendung im Pflanzenschutz

Mitt. dtsch. Ges. all. angew. Ent. 1, 15-17

KLOFT, W.-J. SAFE, A. I. 1981 Einfluß verschieden stark verdünnter Diäten bzw. des Mangels an unterschiedlichen Stickstoffkomponenten auf mehrere Blattlausarten: Wachstum, Entwicklungsdauer, Morphenbildung, Reproduktiom. Mitt. dtsch. Ges. all. angew. Ent. 3, 66-69

KUNKEL, H. 1977 Membrane feeding system in aphid research. Academic Press, New York - San Francisco - London, 311-338

KUNKEL, H, HERTEL, R. 1975 Kotabgabe von holidisch ernährten Myzus-persicae-Larven (aphidina, Homoptera) bei unterschiedlichen Experimentalbedingungen. Ent. exp. u. appl. 19, 82-95.

LEES, A. D. 1963 The role of photoperiod and temperature in the determination of parthenogenetic and sexual forms in the aphid Megoura viciae Buckton. II. The operation of the "interval timer" in young clones. J. Insect Physiol. 4, 154-75

LEES, A. D. 1967 The Production of the apterous and alate forms in the aphid Megoura viciae Buckton, with special reference to the role of crowding. J. Insect Physiol. 13, 289-318

LINSKII, V. G. 1977 Effect of insecticides on the natural enemies of the cabbage aphid
Zashchita Rastenii, 6, 28

MACKAUER, M. 1959 Histologische Untersuchungen an parasitierten Blattläusen.
Zeit. Parasitenk. 19, 322-352

MACKAUER, M.
STARY, P. 1967 World Aphidiidae. Index of Entomophagus Insects.
Ed. V. Delucchi, G. Renaudiere
5, 11-189

MADEL, G.
KILGER, I. 1981 Die Entwicklung des Parasitoiden Diaeretiella rapae M'Intosh (Hym., Braconidae) in Brevicoryne brassicae L. (Sternoryncha, Aphididae).
Mitt. dtsch. Ges. allg. angew. Ent. 3, 110-112

MARKKULA, M. 1953 Biologisch-ökologische Untersuchungen über die Kohlblattlaus, Brevicoryne brassicae L.
Ann. Zool. Soc. zool.-Bot. Fenn. "Vanamo" 15, 1-113

MARX-SOHO, M. 1980 Die zellulären Abwehrmechanismen von Aulacorthum circumflexum (Homoptera: Aphididae) gegenüber den Eiern und Larven der Schlupfwespe Diaeretiella rapae (Hym., Braconidae) in Abhängigkeit von der Blattlausnahrung
Dipl. Arb. Math.-Naturw. Fak. Univ. Bonn

MENNIKEN, W. 1979 Untersuchungen zur Morphologie und Histologie der Larvenstadien des Parasitoiden Diaeretiella rapae (Hym.: Aphidiinae) unter besonderer Berücksichtigung der Nahrungsaufnahme
Dipl. Arb. Math.-Naturw. Fak. Univ. Bonn

MITTLER, T. E. 1976 Development of meridic and oligidic diets für rearing the aphid Myzus persicae.
KOSKI, P. L. Insect Physiol. 22, 1135-1141

MITTLER, T. E. 1970 Utilization of dehydroascorbic acid and some related compounds by the aphid Myzus persicae feeding on an improved diet.
TSITSIPIS, J. A, J. Insect Physiol. 16, 2315-2326
KLEINJAN, J. E.

MOCHIBA, O. 1978 Possible migration of aphid parasites (Hym.: Aphidiidae) across the East China sea.
TAKADA, H. Applied Entomology and Zoology 13, 2; 125-127

NAWROCKA, B. 1972 Integrates control of cabbage aphid (Brevicoryne brassicae L.) on white cabbage.
Biuletyn Instytutu Ochrony Roslin; Wegorek, W. (Editor): Papers presented at the 12th Scientific Session of the Institute for Plant Protection 3rd-5th February 1972: Referaty wygloszone Ochrony Roslin 3-5. II. 1972 r. Nr. 52, 379-387

OATMAN, E. R. 1971 Parasitization on natural enemies attacking the cabbage aphid on cabbage in southern California
Environmental Entomology 2, 3; 365-376

PODOLER, H.
MENDEL, Z. 1977 Analysis of solitariness in a parasite-host system (Muscidifurax raptor, Hymenoptera: Pteromalidae-Ceratitis capitata, Diptera: Tephritidae)
Ecological Entomology 2, 153-160

PUNGERL, N. B. 1984 Host preferences of Aphidius (Hym.: Aphidiidae) populations parasitising pea and cereal aphids (Hemiptera: Aphididae)
Bull. ent. Res. 74, 153-161

ROGERS, C. E. 1973 Effecta of acephate and UNI-K840 on the cabbage aphid and its natural enemies
Progress Report, Texas Agricultural Experiment Station, Nr. 3195

ROMEIS, B. 1968 Mikroskopische Technik
R. Oldenburg Verlag, München, Wien.

RUTHMANN, A. 1966 Methoden der Zellforschung.
Kosmos. Gesellschaft der Naturfreunde. Franckh'sche Verlagshandlung, Suttgart

SALT, G. 1934 Experimental studies in insect parasitism. II, Superparasitism.
Proceedings of the Royal Society,

B, 114, 455-476

SALT, G. 1963 The defence reactions of onsects to metazoan parasites.
Parasitology 53, 527-642

1968 The resistance of insect parasitoids to the defence reactions of their hosts.
Biol. Rev. 43, 200-232

SCHNORBACH, H.-J. 1983 Der Einfluß von Besiedlungs- und Einstechverhalten auf Beginn und Verlauf der Nahrungsaufnahme bei Blattlausgruppen an Wirtspflanze und künstlicher Diät (Aphididae, Homoptera)
Diss. Math.-Naturw. Fak. Univ. Bonn

SEDLAG, U. 1964 Zur Biologie und Bedeutung von Diaeretiella rapae M'Intoh als Parasit der Kohlblattlaus (Brevicoryne brassicae L.)
Nachr. dtsch. Pflschdnst. 18, 81-86

SENGONCA, C.
KLINGAUF, F. 1973 Verhalten eines Blattlausparasiten und seiner Wirte in Abhängigkeit von
ökologischen Jahrbücher, Systematik Ökologie und Geographie der Tiere 100, 1; 81-106

SEKHAR, P. 1957 Mating, oviposition and discrimination of hosts by Aphidius testaceipes and Praon aguti, primary parasites of aphids.
Ann. of the Entomological Soc. of

America, 50, 370-375

SINGH, R.
SINHA, T. B. 1982 Factors resposible for the super-parasitic abilitiy of the parasitoid wasp Trioxys indicus (Hym.: Aphidiidae)
Ent. Gener. 7, 295-300

SPANNHOF, L. 1967 Einführung in die Praxis der Biochemie
Gustav Fischer Verlag, Jena.

SPENCER, H. 1926 Biology of parasites and hyperparasites of aphids
Ann. ent. Soc. Amer. 19, 119-157

STARY, P. 1970 Biology of aphids parasites with respect to intergrated control.
Ser. Entomol., Ed. E. Schimitschek 6, The Hague: Junk

STRAKA, F. 1976 Biological and aconomic effectiveness of aphidophagous enemies of the green cabbage aphid (Brevicoryne brassicae L.)
Rastitelnozashchitna Nauka, 4, 82-91

TAKADA, H 1976 Studies of aphids and their parasites on cruciferous crops and potatoes. I. Parasite complex of aphids.
Kontyu, 44, 2; 234-253

THORPE, W. H. 1932 Experiments upon respiration in the larvae of certain parasitic Hymenop-

tera
Proc. Roy. Soc. Lond. B. 109, 450-71

THORPE, W. H. 1934 The Biology and Development of Cryptochaetum grandicorne (Diptera) an Internal Parasite of Guerinia serratulae (Coccidae)
Quart. J. Micr. Sci. 77, 273-304

THORPE, W. H.
JONES, F. G. W. 1937 Olfactory conditioning in a parasitic insect and its relation to the problem of host selection.
Proc. R. Soc. (B) 124, 56-81

TOWNES, H. 1962 Host selection patterns in some Nearctic ichneumonidae (Hymenoptera)
Trans. XI Int. Congr. Ent. 2, 738-741

TSACHEV, S. 1972 The integrated control of the cabbage aphid
Rastitelna Zashchita 20, 7; 32-34

ULYETT, G. C. 1944 On the function of caudal appendage in primary larvae of parasitic Hymenoptera.
J. Ent. Soc. S. Afr. 7, 30-37

VATER, G. 1971 Über Ausbreitung und Orientierung von Diaeretiella rapae (Hymenoptera, Aphidiidae) unter Berücksichtigung des Hyperparasiten von Brevicoryne brassicae (Homoptera, Aphididae).

Z. ang. Ent. 68, 2; 187-225

VEVAI, E. J. 1942 On the bionomics of Aphidius matricariae HAL., a braconid parasite of Myzus persicae SULZ. Parasitology 34, 141-151

VINSON, S. B. 1976 Host selection by insect parasitoids Ann. Rev. of Entomology, 21, 109-133

WEIRES, R. W. 1973 Integrated control prospects of major cabbage insect pests in Minnesota- based on the faunistic, host varietal, and trophic relationships. Technical Bulletin, University of Minnesota, Agricultural Experiment Station, 291, 42 pp.

WHITE, D. F. 1972 Corpus allatum activity associated with development of wingbuds in cabbage aphid embryos and larvae. J. Insect Physiol. 17, 761-773

WILBERT, H. 1967 Mechanische und physiologische Abwehrreaktionen einiger Blattlausarten (Aphididae) gegen Schlupfwespen (Hymenoptera). Entomophaga 12, 2; 127-137

1978 Einige Beziehungen zwischen Blattläusen (Aphididae) und ihren Parasiten. Z. angew. Entomologie 61, 396-401

WYLIE, H. G. 1965 Discrimination between parasitised

and unparasitised housefly pupae by females of Nasonia vitripennis (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae) Canadian Entomologist 97, 279-286

An dieser Stelle bedanke ich mich bei allen, die mich während der Durchführung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt:

- Herrn Prof. Dr. G. NOGGE, Direktor des Zoologischen Gartens Köln, für die Überlassung des Themas und Förderung dieser Arbeit.

- Herrn Prof. Dr. W. J. KLOFT, Direktor des Institutes für Angewandte Zoologie der Universität Bonn, für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in diesem Institut, sowie für seine freundliche Unterstützung bei der Entstehung dieser Arbeit.

- Herrn Dr. G. MADEL, für seine Betreuung und Durchsicht dieser Arbeit.

- Der Konrad-Adenauer-Stiftung, die durch ein Promotionsstipendium die Durchführung dieser Arbeit sehr erleichterte.

- Frau WOLF, für die Durchführung der fotografischen Arbeiten.

- Meiner Frau G. MEISNER, für die großartige Unterstützung und Hilfe bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

- Allen Kollegen, Mitarbeitern und Angestellten des Institutes für Angewandte Zoologie, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen.

Lebenslauf

Name	Peter Meisner
1.1.1952	geboren in Bonn
Ostern 1958 - Ostern 1963	Besuch der Karl-Simrock-Schule in Bonn
Ostern 1963 - Sommer 1973	Besuch des Friedrich-Ebert-Gymnasiums in Bonn Abitur
1.7.1973 - 30.9.1974	Wehrdienst
WS 74/75 - SS 75	PH Rheinland, Abtl. Bonn
ab WS 75/76	Universität Bonn Studienfach: Biologie
28.11.1977	Vordiplom im Fach Biologie
10.03.1978	Eheschließung
April 1980	mündliche Hauptdiplom-Prüfung
20.6.1980	Geburt des 1. Sohnes
1.10.1981	Abschluß der Diplomarbeit am Institut für Angewandte Zoologie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. G. Nogge
16.11.1981 - 31.3.1982	Wissenschaftlicher Angestellter
Seit 1.4.1982	Stipendiat der Konrad-Adenauer-Stiftung (Graduiertenförderung)
Seit 1.10.1984	Leitender Mitarbeiter der Bayer AG Leverkusen
20.11.1984	Geburt des 2. Sohnes